

**STOFFWECHSELUNTERSUCHUNGEN BEI
NORMALPERSONEN UND DIABETIKERN MIT
BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG ENZYMATISCHER
BESTIMMUNGSMETHODEN UND SCHNELLTESTS
ZUR KETONKÖRPERBESTIMMUNG
IN BLUT UND HARN**

Artur Mackel

1973

Aus der FORSCHERGRUPPE DIABETES und aus der III. MEDIZINISCHEN
ABTEILUNG des KRANKENHAUSES MÜNCHEN-SCHWABING.

Chefarzt: Professor Dr. H. Mehnert

STOFFWECHSELUNTERSUCHUNGEN BEI NORMALPERSONEN UND DIABETIKERN
MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG ENZYMATISCHER BESTIMMUNGS -
METHODEN UND SCHNELLTESTS ZUR KETONKÖRPERBESTIMMUNG IN BLUT
UND HARN.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt
und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwigs Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

ARTUR MACKEL
aus Lam

MÜNCHEN 1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät München der
Universität München.

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Mehnert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 20.2.1973



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>I. EINLEITUNG</u>	1
<u>II. MATERIAL UND METHODIK</u>	2
A. Untersuchungsgut	2
B. Untersuchungsmethoden	
1. Bestimmung der Blutglucose.....	3
2. Bestimmung der freien Fettsäuren.....	6
3. Blut-pH und Standardbikarbonatbestimmung.....	8
4. Enzymatische Bestimmung von Acetacetat.....	10
5. Enzymatische Bestimmung von β -Hydroxybutyrat.....	14
6. Qualitative Ketonkörperbestimmung.....	18
C. Statistische Auswertung	21
<u>III. ERGEBNISSE</u>	
A. Abbildungen	23
B. Tabellen	29
C. Besprechung der Ergebnisse	45
<u>IV. DISKUSSION</u>	
A. Besprechung des vorliegenden Schrifttums.....	59
B. Diskussion der eigenen Ergebnisse	66
<u>V. ZUSAMMENFASSUNG</u>	79
<u>VI. LITERATURVERZEICHNIS</u>	82
Lebenslauf	91

I. EINLEITUNG

Die heute zur Verfügung stehenden Bestimmungsmethoden der Ketonkörper im Blut und Harn sind laboratoriumstechnisch aufwendig und mit relativ hohen Kosten verbunden. In Klinik und Praxis zählt jedoch die regelmäßige Kontrolle des Harns auf Ketonkörper bei der Überwachung von Diabetikern zu einer Routinemethode. Da die Ketose bzw. die Ketoacidose eine gut bekannte Komplikation des Diabetes mellitus und mit Ausnahme des hyperosmolaren Koma eine obligate Vorstufe des Praekoma und Koma darstellt, ist eine rechtzeitige Ermittlung eines ansteigenden Ketonkörperpiegels im Blut und Harn besonders wichtig. Es werden deshalb in Stoffwechselkliniken stationär und ambulant behandelte Diabetiker in regelmäßigen Schulungskursen sowohl in der Handhabung der Diabetes - Diät, in der Technik der Insulininjektion, in der Selbstkontrolle des Harnzuckers und der Harnketonkörper, als auch über Ursachen, Verlauf und Komplikationen dieser Erkrankung belehrt.

Wie bei anderen Schnelltests, ist auch bei den Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung im Serum und Harn zu fordern, daß diese Methoden einfach anzuwenden, leicht zu verstehen und sicher zu beurteilen sind. Die Methode muß zumindest eine semiquantitative, besser eine quantitative Aussage zulassen. Nicht zuletzt darf die Anwendung keine zu hohen Kosten verursachen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung sollte es sein, die Brauchbarkeit der derzeit verwandten Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung bei Gesunden und Diabetikern zu untersuchen.

Da der Arzt nach wie vor in Ermangelung einfacher, präziser und billiger Tests auf Schnelltests angewiesen ist, erscheint es wichtig, mit welchem Ketonkörpergehalt bei entsprechendem Ausfall semiquantitativer Untersuchungen in etwa gerechnet werden kann. Von Bedeutung ist außerdem, daß in der Literatur, je nach verwandter Methode, stark differierende Ergebnisse beschrieben werden. Zum anderen sollte in Verlaufskontrollen bei demselben Untersuchungsgut die Beziehungen der Ketonkörper (β -Hydroxybuttersäure und Acetessigsäure) zu bekannten Metaboliten des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels studiert und bestehende Korrelationen ermittelt werden.

II. MATERIAL UND METHODIK

A. Untersuchungsgut

An 48 stationären erwachsenen männlichen und weiblichen, teils mit Insulin, teils mit oralen Antidiabetika behandelten Diabetikern wurden die im Kapitel "Untersuchungsmethoden" näher beschriebenen Untersuchungen durchgeführt. Dieser Gruppe der Diabetiker wurden 15 stoffwechselgesunde erwachsene Normalpersonen gegenübergestellt. Die Untersuchungen begannen jeweils um ca 8-9 Uhr vormittags etwa 1 Stunde nach dem Frühstück. Bei den Diabetikern wurde während des Untersuchungszeitraumes keine Änderung der Therapie mit oralen Antidiabetika bzw. Insulin vorgenommen. Vor Testbeginn mußten die Patienten die Blase leeren. Es wurde in der fossa cubiti eine Vene punktiert (Braunüle) und nach etwa 10 min Blut abgenommen. Diese Blutentnahme wurde als Untersuchungsbeginn 0 min bezeichnet. Das Blut wurde sofort nach der Entnahme weiter verarbeitet, wie im Kapitel "Untersuchungsmethoden" beschrieben. Die einmal gelegte Braunüle blieb über 2 Stunden liegen und wurde mit einem Mandrin verschlossen. Es schlossen sich jeweils Blutentnahmen nach 60 min und 120 min an. Vor der Untersuchung und nach der letzten Blutentnahme mußte die Blase in ein Gefäß entleert werden. Der Harn wurde ebenfalls wie unten angegeben weiterverarbeitet. Während der 2 Stunden durften sich die Patienten normal bewegen. Es erwies sich als zweckmäßig, die von den Probanden erhaltenen Blutproben und die jeweilige Harnprobe gemäß dem Ansprechen der Schnellmethoden Acetest und Ketostix in 3 Gruppen einzuteilen:

Gruppe 1: Diabetiker, Schnellmethoden im Harn und Serum negativ

Gruppe 2: Diabetiker, Schnellmethoden im Harn positiv, Serum negativ

Gruppe 3: Diabetiker, Schnellmethoden im Harn und Serum positiv.

B. Untersuchungsmethoden

1.) Bestimmung der Glucose: (7, 22, 28, 54)

Die Bestimmung der Glucose erfolgte kolorimetrisch (7) mit der GOD Methode. Verwendet wurde die Testpackung TC-M-II der Firma Boehringer.

Prinzip:

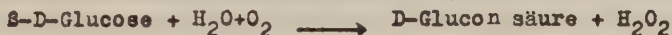
Glucoseoxydase (GOD) oxydiert spezifisch nur β -D- Glucose.

α -D-Glucose wird ebenfalls umgesetzt, jedoch wesentlich langsamer (etwa 150 mal langsamer bei 20°C).

Zur Bestimmung von Glucose kann GOD nur verwendet werden, wenn sich α - und β -D-Glucose im Gleichgewicht befinden. Deshalb enthalten die gereinigten GOD Präparate Mutorotase. Die Reaktionszeit muß hoch gewählt werden, daß sich α -Glucose vollständig umsetzt.

Diese beide Modifikationen, α - und β -Glucose sind die wichtigsten Zucker, die im Urin der Patienten mit Diabetes mellitus vorkommen.

GOD katalysiert die Reaktion



Zur kolorimetrischen Bestimmung der umgesetzten Glucose schließt sich eine Indikatorreaktion an. Wasserstoffperoxyd verwandelt in Gegenwart von Peroxydase Chromogen in einen blauen Farbstoff



Der aus DH_2 gebildete Farbstoff D ist direkt proportional der umgesetzten Menge Glucose. Als Indikator wird O-Dianisidinhydrochlorid benutzt. Die gemessene Extinktion wird auf den Wert des Glucose Standard bezogen. Messung bei 436 m μ . (28).

Reagenzien:

- 1.) Natriumdihydrogenphosphat $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$
- 2.) Dinatriumphosphat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$
- 3.) D-Glucose
- 4.) O-Dianisidinhydrochlorid
- 5.) Perchlorsäure p.a. 70%
- 6.) Glucoseoxydase GOD
- 7.) Peroxydase

Lösungen:

Die Reagenzien sind fertig zubereitet in der Boehringer Testpackung TC-M-II enthalten.

Lösung I : Puffer-Enzym-Gemisch; 0,1 M Phosphatpuffer pH = 7,0;
40 ug POD/ml; 250 ug GOD/ml

Lösung II: Chromogen; 6,6 mg O-Dianisidinhydrochloridlösung/ml

Lösung III: Glucose Standard 91 ug D-Glucose/ml

Lösung IV: Glucose Reagens 100 Teile Lösung I mit 1 Teil
Lösung II mischen. Vor Gebrauch Lösung auf 20°
bringen (1.Tag haltbar).

Lösung V : Perchlorsäure 2,85 ml 70% auf 100 ml Aqua bidest

Arbeitsweise: Die Bestimmung der Glucose erfolgte im Blut.

1.) Enteileweißung

In ein 10 ml Zentrifugenglas werden pipettiert

Lösung V Perchlorsäure 1,0 ml + 0,1 ml Blut

Die saure Lösung muß sofort aufgearbeitet werden, da durch Hydrolyse die in der Probe entstandenen Polysaccharide langsam hydrolysiert werden und erhöhte Glucose-Werte ergeben (7). Die Pipette wird durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen gespült. Anschließend 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Überstand abgießen.

2.) Bestimmungsansatz:

bei 436 m μ ; Schichtdicke 1 cm, Meßvolumen 5,2 ml, zu jeder Versuchsreihe gehört ein Leer- und Standardwert.

- a) Leerwert : 5,0 ml Glucose Reagens Lösung IV
0,2 ml H₂O bidest.
- b) Standard : 5,0 ml Glucose Reagens Lösung IV
0,2 ml Standard Lösung III
- c) Probe : 5,0 ml Glucose Reagens Lösung IV
0,2 ml enteileweißte Probe

gut mischen; 30 - 40 min bei Raumtemperatur stehen lassen. Sonnenlicht vermeiden; Extinktion der Probe und des Standards gegen den Leerwert messen.

3.) Berechnung:

Die Eichkurven verlaufen bis ca 80 ug Glucose pro Ansatz linear.

Das entspricht einer Blutzuckerkonzentration von 450 $\mu\text{g}/\%$.
Zur Berechnung dient der Glucose Standard mit 18,2 μg Glucose
pro Ansatz was bei der Enteiweißung 1 mg Glucose/ml Blut
bzw. Serum entspricht.

$$\frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \times 100 = \text{mg}\% \text{ Glucose im Blut.}$$

2. Bestimmung der Freien Fettsäuren: (14,15, 50)

Die Freien Fettsäuren wurden mit einer von Duncombe (14,15) angegebenen modifizierten Methode (50) bestimmt.

Prinzip:

Die FFS werden durch Kupfernitrat in Kupfersalze übergeführt, die durch Chloroform extrahiert werden. Diese Salze werden mit Diäthylthiocarbaminat in einen Kupferkomplex übergeführt und kolorimetrisch bestimmt.

Reagenzien:

I.) Kupferreagenz:

a) 1 Teil Essigsäure (20ml) + 9 Teile 1 m Triäthanolamin (180 ml) $C_6H_{15}NO_3$

b) 10 Teile Kupfernitrat $Cu(NO_3)_2 \times 3H_2O$ (200 ml) p.a. 6,45%

II. Natrium - Diäthylthiocarbaminat:

$C_5H_{10}NaS_2 \times 3H_2O$ in Butanol-2 lösen (500 mg/500 ml Butanol = 0,1% Lösung).

III. Chloroform p.a.:

Lösung I (in dunkler Flasche) und Lösung II im Kühlschrank bei 4° aufbewahren. Lösung II bei gelbgrüner Verfärbung erneuern.

Arbeitsweise:

1.) Testansatz:

Man pipettiert nacheinander in 3 Schiffreagenzgläser :

Probe	Standard	Leerwert
5,0 ml Chloroform	5 ml Chloroform	5 ml Chloroform
2,0 ml Cu-Reagenz	2,0 ml Cu-Reagenz	2 ml Cu-Reagenz
0,5 ml Serum	0,5 ml Standard	—

Die Gläser werden mit einem Stopfen versehen und in einer Schüttelmaschine 5 min geschüttelt; 5 min scharf zentrifugiert und danach die blaue Phase mit der Wasserstrahlpumpe sehr sorgfältig abgesaugt. Von den Chloroformrückständen der Probe, des Standards und des Leerwertes werden jeweils 3 ml entnommen und 0,5 ml Diäthylthiocarbaminatlösung dazugegeben.

Der Kupfer-Fettsäurekomplex zeigt nach Durchmischen je nach Konzentration verschiedene Farbtintensitäten (Gelbfärbung), die dem Gehalt an FFS proportional sind. Die kolorimetrische Bestimmung wird auf einem Photometer Eppendorf bei 436 mμ und mit 20 mm Küvetten bestimmt. Gemessen wird gegen einen die Bestimmung hindurch mitlaufenden Leerwert, der kein Serum enthält.

Als Standard (0,5 mval) verwendeten wir ein Gemisch aus

Palmitinsäure	42,7 mg
Stearat	47,4 mg
Oleat	47,4 mg.

Die Auflösung erfolgte in 2 ml 2 n NaOH und 50° im Wasserbad; einstellen auf pH 7,0 mit HCl und ad 1000 ml auffüllen. Die Standardwerte liegen bei ca 500 Extinktionseinheiten.

2.) Berechnung:

$$\frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \times 0,5 = \text{FFS in mval/l}$$

Man erfaßt mit dieser Methode nur die höhermolekularen FFS; dagegen werden die kurzkettigen FFS nicht mitbestimmt. Da physiologisch nur die langkettigen FFS eine Rolle spielen, besteht keine Gefahr, daß man falsche Werte bekommt.

3. Bestimmung des pH- und Standardbikarbonatwertes: (1,2,7,8)

Die Messung des Blut pH und des Standardbikarbonates erfolgte mit der Mikro-Astrupausrüstung Typ AME-1 (2, 4). Mit diesem Gerät sind Messungen möglich, die über den Säure-Basen Zustand im Blut Auskunft geben. Über die Messung von Grundgrößen, wie Blut pH venös, pH des mit CO_2 Äquilibrierten Blutes ist mit Hilfe eines Nomogrammes die Berechnung des Standardbikarbonates, der Pufferbase, des Basenüberschusses und des P_{CO_2} möglich.

Wir beschränkten uns auf die Messung des ven. Blut-pH und die Berechnung des St.Bi. (Definition: St.Bi. = Bikarbonatkonzentration im Plasma, die bei einem P_{CO_2} von 40 mm Hg und bei einer Temperatur von 38° mit vollständig oxydiertem Hämoglobin aus den Blutzellen abgelöst wird).

Gerät:

Die Mikroastrupausrüstung enthält ein pH-Meter, eine Kapillarelektrode, umspült von einem geschlossenen Wasserkreislauf mit Thermostat und 2 Äquilibrierkammern mit Schüttelvorrichtung, die mit einem Gas- Wasserdampfsättiger, der an 2 CO_2 - O_2 Gasflaschen mit genau bekanntem, gasometrisch bestimmten Gehalt von CO_2 und O_2 hängt, verbunden sind.

Vorbereitung:

Wir entnehmen durch Punktion mit einer vorher heparinisierten (2 Tropfen Liquemin) 5 ml Einmalspritze 2 min nach Entstauung ca 2 ml venöses Blut aus einer Vene des Oberarmes. Sofort nach Entnahme wurde die Spritze in ein vorbereitetes Eisbad gestellt um sämtliche spontanen, unphysiologisch einsetzenden Stoffwechselvorgänge zu unterdrücken. Aus demselben Grunde wurde streng auf die anaerobe Abnahme des Blutes geachtet. Um Veränderungen trotz Kühlung zu vermeiden, wurde die Bestimmung möglichst umgehend abgeschlossen.

Arbeitsweise:

Aus der Blutprobe wird mit der Saugvorrichtung des Astrupgerätes eine Blutmenge in die Kapillare der Glaselektrode aufgesaugt und anschliessend in gesättigtes KCl einer Kalomelektrode eingetaucht. Nach Stromschluß kann der pH-Wert direkt auf dem Meßgerät abgelesen werden. Es wurden jeweils 3 Vergleichswerte

aus einer Probe bestimmt.

Um das St.Bi. zu bestimmen wurden 2 mit Heparin stabilisierte Blutproben in 2 kleine vibrierende Glasröhrchen des Gerätes eingefüllt und je 1 Probe mit einem gasometrisch bestimmten Gehalt an CO_2 und O_2 von ca 4% und 8% CO_2 durchperlt und Äquibriert. Die nach 5 min Äquibrierung sich ergebenden pH-Werte der Proben, sowie die bekannten P_{CO_2} Drucke der Gasgemische dienen als Berechnungsgrundlage für das St.Bi.

Berechnung:

Die Berechnung des St.Bi. erfolgte nach dem von Andersen und Engel 1960 beschriebenen Nomogrammes (1,2).

Die Berechnung erfolgt aus 3 Werten:

- 1.) aktueller pH-Wert
- 2.) P_1 = pH nach Äquibrierung mit 4% CO_2
- 3.) P_2 = pH nach Äquibrierung mit 8% CO_2 .

Die Kohlendioxyddrucke P_{CO_2} werden nach folgender Formel berechnet:

$$\text{P} = \text{P}_{\text{CO}_2} \text{ (mm Hg)} = \frac{\text{P}_b - 50}{100} \times \text{CO}_2\% \text{ der Gasflasche}$$

P_b = Barometerdruck

50 = Dampfdruck des H_2O .

Das Nomogramm hat die Überlegung zur Grundlage, daß die graphische Darstellung der pH-Werte und der $\log \text{P}_{\text{CO}_2}$ in Beziehung gesetzt innerhalb des physiologischen Bereiches Geraden sind.

Die beiden Werte P_1 und P_2 werden in das Nomogramm eingetragen und mit pH_1 und pH_2 zum Schnitt gebracht. Es ergeben sich 2 Punkte, deren Verbindungslinie die Gerade für das St.Bi. schneidet.

Dieser Wert ist das gesuchte St.Bi. in mval/l

Normalwerte bei Mikroastrup:

tatsächlicher pH = $\bar{X}$ = 7,388 (7,351-7,424)

St.Bi. = $\bar{Y}$ = 23,0 (21,3-24,8)

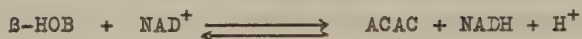
4. Bestimmung des Acetacetat (9,8,23,24,42,52,57,74, 76)

Die Bestimmung des ACAC- Gehaltes im Blut erfolgte modifiziert nach der von Mellanby und Williamson angegebenen Methode (42).

1937 wurde von Green (24) ein Enzym beschrieben, daß die reversible Oxydation von β - Hydroxybutyrat katalysiert. Es wurde gefunden, daß die Extrakte von Poly- β -Hydroxybutyrat bildender Bakterien (*Rhodospseudomonas spheroides*) eine lösliche und stabile D-(-)- β -Hydroxybutyratdehydrogenase enthalten. (12,76)

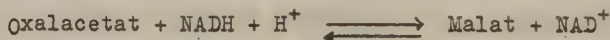
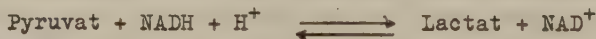
Prinzip:

Die β -HBDH katalysiert die Reaktion



Die Gleichgewichtskonstante liegt bei $K(\text{H}^+) = 1,45 \times 10^{-9}$ bei 25° . Bei $\text{pH} = 7,0$ und überschüssiger NAD^+ wird ACAC zu 98% unter gleichzeitiger Bildung einer äquivalenten Menge NADH reduziert. Die Abnahme der NADH Konzentration ist proportional der ACAC Menge. Gemessen wird bei 366 m μ .

Wegen eventueller Verunreinigung der β -HBDH mit Laktat - und Malatdehydrogenase ist es notwendig im Blut vorhandenes Pyruvat und Oxalacetat vor Beginn der ACAC Bestimmung durch Zugabe von reinen MDH und LDH Enzymen zu entfernen.



Reagenzien :

- 1.) Perchlorsäure 60% p.a.% Dichte = 1.54
- 2.) Kaliumhydroxyd 1m
- 3.) Universalindikator
- 4.) Acetacetat
- 5.) reduz. Nicotinadenindinucleotid, di-Natriumsalz
- 6.) D-(-)- β -Hydroxybutyratdehydrogenase

- 7.) Malatdehydrogenase
- 8.) Laktatdehydrogenase
- 9.) Trikaliumphosphat $K_3PO_4 \times 3 H_2O$

Herstellung der Lösungen:

- 1.) Trikaliumphosphatlösung (1 M K_3PO_4)
26,6 g $K_3PO_4 \times 3 H_2O$ mit Aqua bidest. ad 100 ml lösen
- 2.) NADH - Lösung (0,008 M)
33 mg NADH - Na_2 (Natriumsalz) in 5 ml bidest. Aqua lösen.
- 3.) LDH / MDH - Lösung (je 0,5 mg Enzymprotein/ ml)
LDH mit 2,2 M Amoniumsulfatlösung ph = ca. 7, und MDH mit 3,2 M Ammoniumsulfatlösung ph = ca 6 verdünnen
- 4.) B-HBDH - Lösung (5mg B-HBDH /ml)
unverdünnt verwenden
- 5.) Perchlorsäure (0,7 M $HClO_4$)
6 ml 70% -Perchlorsäure mit Aqua bidest. auf 100 ml verdünnen.

Haltbarkeit der Lösungen :

NADH - Lösung wird bei -15° aufbewahrt. Die Enzymlösung hält bei $2-4^\circ$ ca einen Monat. Die anderen Lösungen bei Raumtemperatur aufbewahren.

Arbeitsweise :

Die Bestimmung von ACAC erfolgte im Blut und Harn. Blut wurde nach der Abnahme sofort in ein bereitgestelltes, mit eisgekühlter Perchlorsäure gefülltes Reagenzglas mit der Vollpipette einpipetiert. Die Enteiweißung erfolgte gleich danach, um nicht die enzymatische Decarboxylierung von ACAC (76), die vom Blut beschleunigt wird (bei der Inkubation bei 37° mit $1 \mu M$ ACAC/ml zerfallen 40% der Ketosäuren in 1 Std.) hervorzurufen.

1.) Enteiweißung

In ein 10 ml Zentrifugenglas werden einpipettiert:

Perchlorsäure eiskalt 10 ml

Blut direkt aus der Vene 10 ml

mit einem Glasstab gut mischen - 10 min bei 3000 U/min zentrifugieren. Überstand messen und dekantieren.

Aus dem Überstand 2.5 ml

zusetzen von

Trikaliumphosphat

0,4 ml

mischen, 30 min im Eisbad stehen lassen, auskristallisierte Perchlorsäure abfiltrieren.

Von diesem gepufferten Filtrat wird nach pH - Einstellung mit Kalilauge auf 6,8-7,0 (zur leichteren Einstellung NaHCO_3 in Spuren eingeblasen) und Temperierung auf ca 25° 2,0 ml zum Test eingesetzt.

2.) Bestimmungsansatz:

Wellenlänge 366 mμ; Glasküvette 1 cm Schichtdicke; Temp.: 25° ; Messung gegen Luft auf dem Extinktionsschreiber.

In eine Küvette gibt man :

Filtrat	2 ml
NADH - Lsg.	0,05 ml

mischen und Extinktion E_1 über ca 10 min messen.

Zugeben

LDH/MDH Suspension	0,01 ml
--------------------	---------

über 10 min messen, Extinktion E_2 ergibt sich durch Extrapolation auf die Zeit der Zugabe von LDH/MDH $E_1 - E_2 = \Delta E_{\text{Pyruvat}}$.

Zugeben von

B-HBDH Lsg.	0,02 ml
-------------	---------

über ca 30 min Extinktion messen, Extinktion E_3 erhält man durch Extrapolation auf die Zeit der Zugabe von B-HBDH.

$E_2 - E_3 = \Delta E_{\text{ACAC}}$

3.) Bestimmung des Verdünnungsfaktors:

Blut besteht zu ca 80% seines Gewichtes aus Flüssigkeit.

1 ml Blut wiegt 1,06 g. 10 ml Blut die zum Test gebraucht wurden wiegen dann 10,6 g. 10 ml Perchlorsäure wurden bei der Enteiweißung zugesetzt.

Es ergibt sich somit

$$\frac{10,6}{100} \times 80 + 10 = 18,48 \text{ ml Extrakt, davon wurden 2,5 ml}$$

mit 0.4 ml KOH neutralisiert = 2,9 ml; daraus wurden 2 ml in den Testansatz eingesetzt.

$$\frac{18,48}{10} \times \frac{2,9}{2,5} \times \frac{1}{2} = 1,07.$$

18,48 = Extraktvolumen 2,5 = Überstand

10 = Perchlorsäure 2 = Filtrat

2,9 = Überstand + KOH

1,07 ist der Verdünnungsfaktor zur Umrechnung von μg ACAC in der Küvette auf μg ACAC /ml Blut.

4.) Berechnung des ACAC Gehaltes:

Das ACAC in der Küvette wird nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\Delta E \times V \times MG}{\epsilon \times d}$$

ΔE = Extinktion $E_2 - E_3$

ϵ = Extinktionskoeffizient

V = Gesamtestvolumen

d = Schichtdicke

MG = Molekulargewicht von ACAC

$$\frac{\Delta E \times 2,08 \times 102}{3,3} = \Delta E \times 64,3 \mu\text{g/Küvette}$$

$$\Delta E \times 64,3 \times 1,07 = \Delta E \times 69 \mu\text{g/ml Blut} = \Delta E \times 6,9 \text{ mg/\%}$$

ACAC Bestimmung im Urin:

Die Bestimmung im Urin erfolgt nach dem gleichen Schema.

1.) Enteiweißung: 3 ml Urin + 3 ml Perchlorsäure

2.) Überstand 2,5 ml + 0,4 ml KOH

dann vorgehen wie bei der Bestimmung von ACAC im Blut.

Berechnung des Verdünnungsfaktors:

$$\frac{6 \times 2,9 \times 1}{3 \times 2,5 \times 2} = 1,16$$

1,16 ist der Verdünnungsfaktor zur Umrechnung von μg ACAC in der Küvette auf μg ACAC/ml Blut.

Berechnung des ACAC Gehaltes:

$$\frac{\Delta E \times 2,08 \times 102}{3,3} = \Delta E \times 64,3 \mu\text{g in der Küvette}$$

$$\Delta E \times 64,3 \times 1,16 = \Delta E \times 74,58 \mu\text{g/ml Harn} = \Delta E \times 7,46 \text{ mg/\%}$$

5. Bestimmung des β -Hydroxybutyrates (8, 9, 24, 57, 74, 75, 76)

Die Bestimmung des β -Hydroxybutyrates erfolgte ebenfalls nach der von Williamson und Mellanby angegebenen Form (75, 76).

Prinzip:

D-(-)- β -Hydroxybutyratdehydrogenase katalysiert die Reaktion:



Die Gleichgewichtskonstante liegt bei $25^\circ = K(\text{H}^+) = 1,45 \times 10^{-9}$. Bei pH 8,5 wird β -HOB zu 40% zu ACAC oxydiert. Um die Reaktion vollständig von links nach rechts ablaufen zu lassen, muß ACAC abgefangen werden. Gemessen wird die Zunahme der NADH Extinktion bei 334 m μ .

Reagenzien:

- 1.) Trishydroxymethylmethan - Tris
- 2.) Salzsäure 1N und 0,2 N
- 3.) Perchlorsäure p.a. Dichte 1,54
- 4.) Kaliumhydroxyd
- 5.) Universalindikator
- 6.) Hydrazinhydrat
- 7.) NAD^+
- 8.) D-(-)- β -Hydroxybutyrat; Na-salz.
- 9.) D-(-)- β -Hydroxybutyratdehydrogenase aus *Rhodospseudomonas spheroides*.

Das Enzympräparat β -HBDH ist mit MDH und Spuren von Polyoldehydrogenase verunreinigt. Malat stört daher die β -HOB Bestimmung. Mannit und Sorbit, die gewöhnlich nicht im Gewebe vorkommen, werden in Gegenwart von NAD langsam oxydiert.

Herstellung der Lösungen:

- 1.) Trispuffer: 1,2 g (0,1M) Trishydroxymethylaminomethan in 50 ml aqua dest. lösen. 14,3 ml 0,2 n HCl dazugeben und ad 100 ml aqua dest. auffüllen.

- 2.) Hydrazinbuffer: 1,25 ml Hydrazinhydrat (80%) und 5 ml 1 n HCl mit aqua dest. ad 100 ml auffüllen; pH 3,5 nachprüfen.
- 3.) Perchlorsäure: 6 ml 70% HClO_4 mit aqua dest. ad 100 ml auffüllen.
- 4.) Nikotinadenindinucleotid: (0,025 M β -NAD) 10 mg NAD in 1ml aqua dest. lösen.
- 5.) Kalilauge: (20%) 20 mg KOH mit aqua dest. ad 100 ml auffüllen.
- 6.) D-(-)- β -HBDH: (5mg β -HBDH/ml) unverdünnt verwenden.

Haltbarkeit der Lösungen:

Die NAD Lösung wird bei -15° aufbewahrt. Die Enzymlösung hält sich bei $2-4^\circ$ ca 1 Monat. Die Hydrazinlösung muß jeden Tag frisch angesetzt werden. Die anderen Lösungen verschlossen bei Raumtemperatur aufbewahren.

Arbeitsweise:

Die Bestimmung von β -HOB erfolgte im Blut und im Urin.

1. Enteiriweißung:

Die Enteiriweißung erfolgte in gleicher Weise wie bei der ACAC Bestimmung

10 ml Blut direkt aus der Vene + 10 ml kalte Perchlorsäure mit Glasstab gut mischen; 10 min bei 3000 U/min zentrifugieren. Überstand messen, dekantieren und filtrieren.

Aus dem Überstand 3 ml

zusetzen von

KOH ca 0,5 ml bis pH 9,2-9,5

(zur leichteren pH Einstellung werden Spuren von Natriumbikarbonat eingeblasen.) Die zur pH Einstellung benötigte KOH Menge ist genau zu notieren, da sie zur Berechnung des Verdünnungsfaktors gebraucht wird.

30 min in ein Eisbad stellen und amorph kristallisiertes Kaliumperchlorat abfiltrieren.

2. Bestimmungsansatz: bei 334 m μ ; Temp.: 37° ; Schichtdicke 1 cm.

In eine Küvette pipettieren:

Hydrazinpuffer	1,0 ml
Trispuffer	0,5 ml
Filtrat	1,5 ml
NAD	0,1 ml

Stillstand der Reaktion abwarten und Extinktion E_1 messen.

Zugeben:

β -HBDH 0,025 ml

nach 40 min Extinktion E_2 ablesen. $E_2 - E_1 = E_{HB}$

Zur Kontrolle der Reaktion wird ein Standard - und ein Leerwert mitbestimmt. In den Standardansatz wird ein Na-Salz der Hydroxybuttersäure eingewogen und dann die Menge des Salzes bestimmt. Wir benutzen einen 2 mg/% Standard. Die gefundenen Werte lagen bei 60-70% des eingewogenen Na-Salzes. Unter den beschriebenen Bedingungen soll jedoch D-(-)- β -Hydroxybutyrat zu 98% unter Bildung einer stöchiometrischen Menge NADH gebildet werden.

3. Bestimmung des Verdünnungsfaktors:

Blut besteht zu ca 80% seines Gewichtes aus Flüssigkeit.

1 ml Blut wiegt 1,06 g. 10 ml Blut, die zum Test gebraucht wurden wiegen dann 10,6 g. 10 ml Perchlorsäure wurden bei der Enteiweißung zugesetzt.

Es ergibt sich somit:

$$\frac{10,6 \times 80}{100} + 10 = 18,48 \text{ ml Extrakt, davon wurden 3 ml}$$

mit ca 0,5 ml KOH neutralisiert = 3,5 ml; daraus wurden 1,5 ml in den Testansatz eingesetzt.

$$\frac{18,48}{10} + \frac{3,5}{3} + \frac{1}{1,5} = 1,394$$

1,394 ist der Verdünnungsfaktor zur Umrechnung von μg BHOB in der Küvette auf μg BHOB/ml Blut.

4. Berechnung des BHOB Gehaltes:

Das BHOB in der Küvette wird nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{E \times V \times MG}{\epsilon \times d}$$

E = Extinktion $E_2 - E_1$

V = Gesamttestvolumen

MG = Molekulargewicht von BHOB

ϵ = Extinktionskoeffizient

d = Schichtdicke

$$\frac{x \ 3,1 \times 10^4}{6} = 53,6 \times E \ \mu\text{g/Küvette}$$

$$E \times 53,6 \times 1,394 = (\text{mg}/\% \text{ BHOB im Blut})$$

B-HOB Bestimmung im Urin:

Die Bestimmung im Urin erfolgt nach dem gleichen Prinzip.

1. Enteiweißung: 3 ml Urin + 3 ml Perchlorsäure

2. Überstand: 3 ml + KOH

Dann vorgehen wie bei der Bestimmung von B-HOB im Blut.

Berechnung des Verdünnungsfaktors:

$$\frac{6 \times 3,5 \times 1}{3 \times 3 \times 1,5} = 1,55; 1,55 \times 53,6 = 83,1 \ \mu\text{g/ml Urin};$$

$$E \times 8,31 = (\text{mg}/\% \text{ ml Urin})$$

Die Berechnung der Standardwerte erfolgt in gleicher Weise wie die Berechnung des Urinwertes von BHOB. Das Molekulargewicht des B-HOB Na Salz beträgt 124.

Faktorentabelle: Verdünnungsfaktoren bei steigendem Zusatz von KOH zur Neutralisation des Filtrates und Einstellung auf den pH 9,2-9,5.

slut

Überstand	+ KOH			
3 ml	0,3	=	$\frac{18,48}{10} \times \frac{3,3}{3} \times \frac{1}{1,5}$	= 1,35 x 53,6 = 7,236
	0,4			1,394 7,472
	0,5			1,435 7,691
	0,6			1,476 7,911
	0,7			1,517 8,131

Urin

Überstand	+ KOH			
3 ml	0,4	=	$\frac{6}{3} \times \frac{3,4}{3} \times \frac{1}{1,5}$	= 1,51 x 53,6 = 8,09
	0,5			1,55 8,31
	0,6			1,6 8,576
	0,7			1,644 8,811
	0,8			1,688 9,047
	0,9			1,733 9,288
	1,0			1,777 9,534
	1,1			1,822 9,766
	1,2			1,866 10,001
	1,3			1,911 10,243

Methoden:

Legal'sche Probe (Legal: Breslau: 1859 - 1922)

5 ml Harn werden mit einigen Tropfen frisch bereiteter Nitroprussidnatriumlösung und etwa 2 ml NaOH versetzt. Rotfärbung zeigt die Gegenwart von Ketonkörpern an. Gibt man tropfenweise Eisessig zu, so verstärkt sich die Rotfärbung und nimmt einen burgunderroten Farbton an.

Gerhardt'sche Probe: (Gerhardt Berlin 1833 - 1902)

Die Probe kann nur mit frischem Urin ausgeführt werden, da bei langem Stehen des Harnes das vorhandene Acetacetat zerfällt und nicht mehr nachgewiesen werden kann. Etwas Harn wird mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert und tropfenweise 10% Eisenchloridlösung zugesetzt. Bei normalem Harn fällt ein gräulicher Niederschlag von Ferriphosphaten aus. Bei Gegenwart von Acetacetat tritt eine burgunderrote Färbung auf.

Acetest (Produkt der Ames und Co.)

Die Tablette enthält: Dinatriumpentacyanonitrosylferrat (Nitroprussidnatrium) Aminoessigsäure, Dinatriumhydrogenphosphat (Puffer) und Laktose, Laktose erleichtert das Ablesen der Ergebnisse.

Anwendung: Eine Tablette wird auf eine saubere weiße Unterlage gelegt und mit Serum oder Urin beträufelt. Innerhalb 30 sec entwickelt sich bei Anwesenheit von Ketonkörpern eine violette Färbung der Tablette. Die Stärke der Blaufärbung steht in Relation zum Ketongehalt. Ein Vergleich der Verfärbung mit einer der Packung beiliegenden Farbskala ergibt die Bewertungsstufen negativ, schwach, mittel und stark.

Die Tabletten sind kühl und trocken aufzubewahren. Die Vorratsflasche ist nach Entnahme der Acetest-Tabletten sofort wieder fest zu verschließen. Die Tabletten sind vor Wärme und direkter Sonneneinstrahlung zu schützen. Wir testeten Serum bei 0,60 und 120 min und den Harn bei 120 min mit der Acetesttablette.

Ketostix: (Miles Laboratories Inc)

Die Reaktionszone enthält eine gepufferte Mischung von Nitroprussidnatrium und Glykokoll.

Anwendung: Das Teststäbchen wird nur kurz in frischen Harn eingetaucht. Flüssigkeitsreste werden abgestreift. Bei Anwesenheit von Ketonkörpern entwickelt sich nach 15 sec ein Farbumschlag nach violett, der durch mit einer der Packung beiliegenden Farbskala verglichen und mit negativ, schwach, mäßig oder stark bewertet werden kann. Die Reaktionszone reagiert nicht mit β -Hob. Farbänderungen können verursacht werden durch Phthalylverbindungen; diese rufen eine rote bis violette Verfärbung der Reaktionszone hervor, die irrtümlich für eine Verfärbung durch Ketone gehalten werden kann. Sehr hohe Konzentrationen von Phenylketonen und 8-Hydroxychinolin (Harnkonservierung) ergeben eine Verfärbung, die jedoch deutlich von der der Ketone abzugrenzen ist. Wir testeten das Serum bei 0,60,120 min und den Harn bei 120 min mit dem Ketostix Teststreifen.

Hinweise: Die Reaktionszone der Teststäbchen darf nicht mit den Fingern berührt werden. Ein Nachlassen der Empfindlichkeit kann durch Schutz vor Feuchtigkeit, Sonne und starker Wärme verhindert werden. Ein Dunkelwerden der Reaktionszone zeigt den Verlust der Empfindlichkeit an. Die Reaktionszone soll nur kurz in den Harn gehalten werden, damit die in dieser Zone enthaltenen Reagenzien nicht herausgelöst werden.

C. Statistische Auswertung (10, 34)

Mittelwerte

Aus den Einzelwerten wurden die Mittelwerte, die den durchschnittlichen Wert der Probe angeben und die Standardabweichung, die aussagt, wie stark die Einzelwerte um den Mittelwert streuen, berechnet. Der Mittelwert einer Stichprobe $x_1 \dots x_n$ ist definiert als das arithmetische Mittel der Stichprobenwerte und wird mit $\bar{x}$ bezeichnet.

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} \quad \text{oder} \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n x_j$$

Die Varianz oder Standardabweichung ergibt sich aus :

$$s^2 = \text{Varianz} = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2$$

Die nichtnegative Quadratwurzel der Varianz ist die Standardabweichung:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2}$$

$n-1$ = Anzahl der Freiheitsgrade der Wurzel.

Die Standardabweichung des Mittelwertes ist:

$$\text{S.E.M.} = \frac{s}{\sqrt{n-1}}$$

In den Tabellen und Zeichnungen wurde jeweils der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung des Mittelwertes S.E.M. angegeben.

Signifikanzbestimmung:

Die Prüfung der Wahrscheinlichkeit, ob die unter beschriebenen Bedingungen gefundenen Stichprobenwerte zufällig entstanden sind oder auf einem echten, signifikanten Unterschied beruhen wurde mit dem T-Test vorgenommen. Unterschied wurden als signifikant bezeichnet, wenn die Wahrscheinlichkeit, daß der Unterschied zufällig entstanden ist kleiner als 5% war ($p < 0,05$).

Zur Bestimmung von p errechnet man zuerst t:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + \sqrt{n}}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}}$$

Die Werte von t können in Tabellen, die die Signifikanzschranken für die Studentverteilung angeben, aufgesucht werden. Dabei wird in der Spalte der Freiheitsgrade n-1 der errechnete Wert von t gefunden und kann einem angegebenen p zugeordnet werden.

Korrelationen

Die Einzelwerte der Stoffwechseluntersuchungen wurden zueinander in Korrelation gesetzt und ein Korrelationskoeffizient r ermittelt. Dieser rechnerisch bestimmte Koeffizient sagt aus, wie das Verhalten der beiden Variablen x und y voneinander abhängt. Dieses Verhalten wird durch die Streuung um den Mittelwert charakterisiert. Außer diesen Kenngrößen der einzelnen Variablen muß noch die Verbindung dieser beiden Werte in die Berechnung eingehen. Dies geschieht mit der Kovarianz s_{xy} .

$$s_{xy} = \frac{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n-1}$$

x_j, y_j = beliebiges Meßwertpaar aus der Stichprobe.

Der Korrelationskoeffizient ist:

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x \cdot s_y}$$

Die Gerade ist gegeben durch $y = A + bx$.

A = "Achsenabschnitt", b = Steigungsmaß der Geraden (Regressionskoeffizient.)

Korrelationen, die sich durch einen Koeffizienten ab r=0,7 auszeichneten, wurden als "gut" bezeichnet. Für diese Korrelations- und die dazugehörigen Regressionskoeffizienten wurden die Konfidenzintervalle rechnerisch ermittelt.

KETONKÖRPERNACHWEIS IM SERUM MIT SEMIQUANTITATIVEN
SCHNELLMETHODEN IM VERGLEICH ZU ENZYMATISCH GEMESSENEN WERTEN

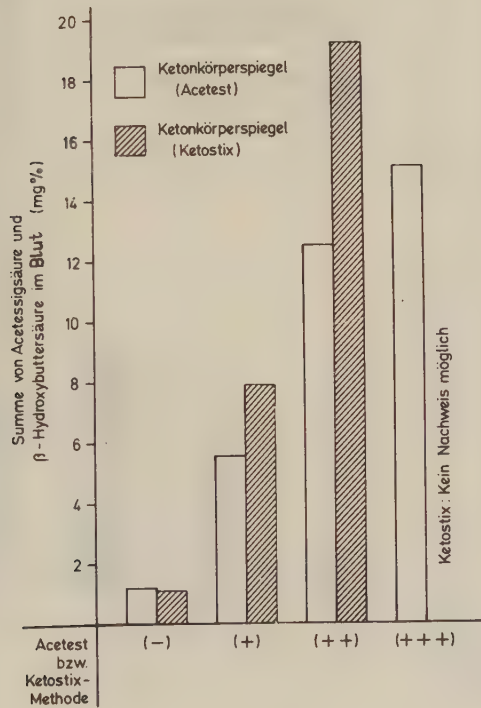


Abbildung 1

Ketonkörpernachweis im Harn mit semiquantitativen Schnellmethoden im Vergleich zu enzymatisch gemessenen Werten.

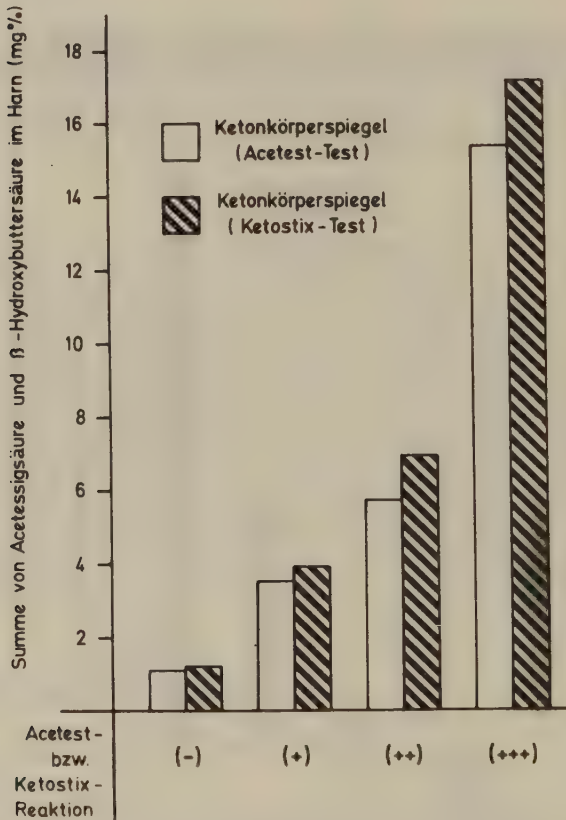


Abbildung 2

Verhalten der Blutglucose, der freien Fettsäuren und des Standard-
bikarbonates bei Normalpersonen und Diabetikern während eines
Beobachtungszeitraumes von 120 Minuten. ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)

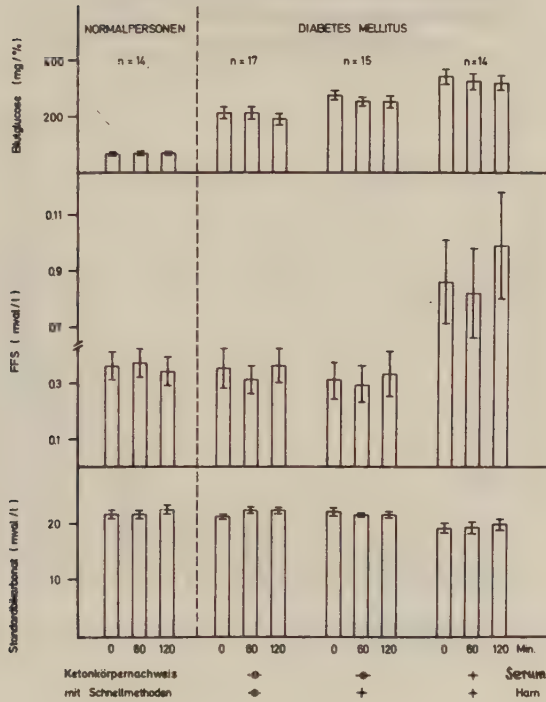


Abbildung 3

Verhalten des Acetates und β -Hydroxybutyrates in Blut und Harn bei Normalpersonen und Diabetikern während eines Beobachtungszeitraumes von 120 Minuten. ($\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$)

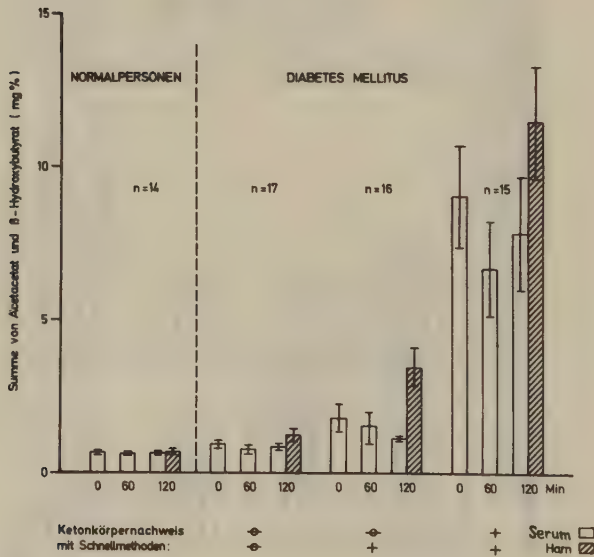


Abbildung 4

BEZIEHUNG DER KETONKÖRPER (β -HYDROXYBUTYRAT UND
ACETACETAT) IM HARN UND IM BLUT (n=49)

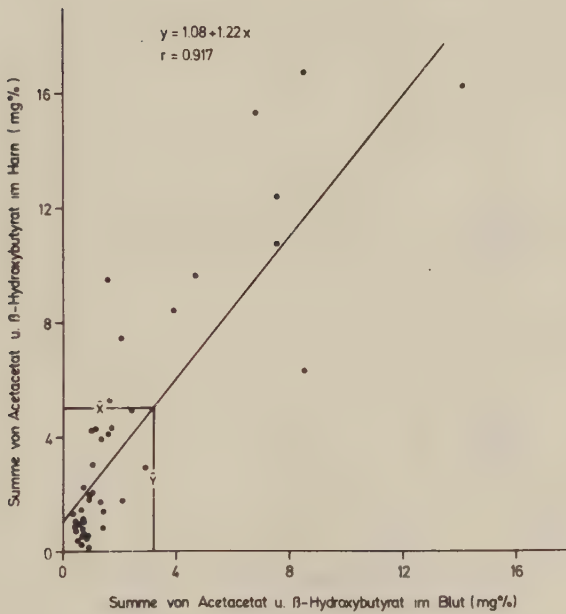


Abbildung 5

BEZIEHUNG DER BLUTKETONKÖRPER ZU DEN SERUM-
WERTEN DER FREIEN FETTSÄUREN (n=126)

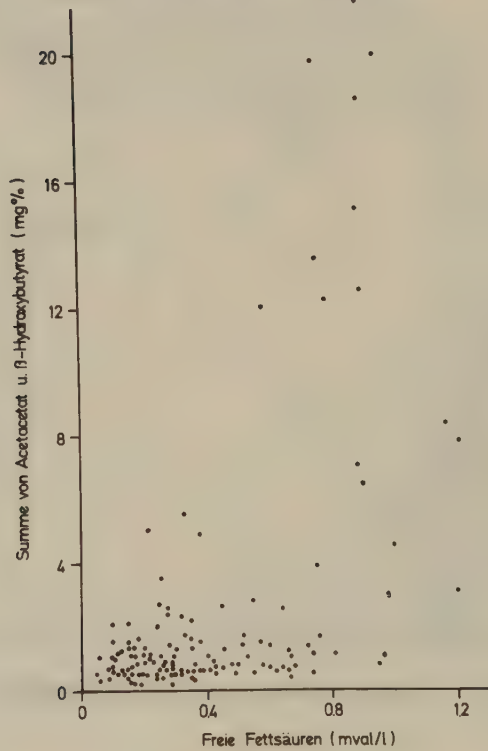


Abbildung 6

Tab. 1: Verhalten der Blutglucose, der freien Fettsäuren, des Blut-pH und des Standardbikarbonates bei Normalpersonen und Diabetikern während eines Beobachtungszeitraumes von 120 min. (Angabe der Signifikanzen p zu den jeweils entsprechenden Zeitpunkten der aufeinanderfolgenden Untersuchungsgruppen. N.S. = Nicht signifikant.)

Normalpersonen				Diabetiker				Diabetiker				Diabetiker			
				Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden											
				Serum+Harn negativ				Harn positiv				Serum+Harn positiv			
				0'	60'	120'		0'	60'	120'		0'	60'	120'	
BLUTGLUCOSE mg/%															
n	14	14	14	17	16	17		15	15	15		14	14	14	
$\bar{x}$	78	77,7	75,1	217,2	215,2	195,6		274,2	254,9	255		345,7	327,4	319,4	
s	13,8	18,6	9,7	84	94,6	85,9		69,2	59,7	73,1		105,7	99,7	80,7	
S.E.M.	3,7	5,0	2,6	20,4	23,6	20,8		17,8	15,4	18,9		28,2	26,6	21,6	
p				0,001	0,001	0,001		0,05	N.S.	0,05		0,05	0,05	0,05	
Freie Fettsäuren mval/l															
n	13	14	13	17	17	17		15	14	12		14	13	12	
$\bar{x}$	0,36	0,37	0,34	0,35	0,31	0,36		0,31	0,29	0,33		0,86	0,82	0,99	
s	0,18	0,20	0,18	0,30	0,21	0,27		0,26	0,28	0,29		0,56	0,58	0,67	
S.E.M.	0,05	0,05	0,05	0,07	0,05	0,06		0,07	0,07	0,08		0,15	0,16	0,19	
p				N.S.	N.S.	N.S.		N.S.	N.S.	N.S.		0,001	0,01	0,005	

N.S. = Nicht signifikant

	Normalpersonen			Diabetiker			Diabetiker			Diabetiker		
	Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden			Serum+Harn negativ			Harn positiv			Serum+Harn positiv		
	0'	60'	120'	0'	60'	120'	0'	60'	120'	0'	60'	120'
pH												
n	13	12	12	14	14	12	15	15	14	13	14	13
$\bar{x}$	7,337	7,334	7,352	7,335	7,337	7,345	7,309	7,336	7,319	7,319	7,355	7,337
s	0,072	0,069	0,488	0,075	0,075	0,084	0,067	0,546	0,0748	0,080	0,064	0,088
S.E.M.	0,02	0,02	0,014	0,02	0,02	0,024	0,017	0,014	0,02	0,022	0,017	0,024
p				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Standardbikarbonat mval/l												
n	12	11	12	13	12	11	15	13	13	12	11	10
$\bar{x}$	21,6	21,6	22,3	21,1	22,2	22,3	22	21,5	21,5	19,1	19,2	19,8
s	2,67	2,68	2,69	1,65	2,04	1,86	2,48	1,35	1,91	3,3	3,05	2,96
S.E.M.	0,77	0,81	0,78	0,46	0,59	0,56	0,64	0,37	0,59	0,9	0,92	0,93
p				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,02	<0,02	N.S.

Tab. 2: Verhalten des Acetacetats und des β -Hydroxybutyrats bei Normalpersonen und Diabetikern in Blut und Harn während eines Beobachtungszeitraumes von 120 min.
(Angabe der Signifikanzen p zu den jeweils entsprechenden Zeitpunkten der aufeinanderfolgenden Untersuchungsgruppen.)

Normalpersonen				Diabetiker				Diabetiker			
				Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden							
				Serum+Harn negativ		Harn positiv		Serum+Harn positiv			
	0'	60'	120'	0'	60'	0'	60'	0'	60'	0'	120'
Acetacetat mg/% (Blut.)											
n	15	15	13	19	19	16	14	14	14	15	16
$\bar{x}$	0,33	0,3	0,32	0,39	0,38	0,72	0,58	0,49	1,71	1,7	1,79
s	0,11	0,13	0,13	0,17	0,24	0,14	0,46	0,2	1,56	1,49	1,86
S.E.M.	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05	0,03	0,12	0,05	0,42	0,38	0,46
p				N.S.	N.S.	0,02	N.S.	N.S.	<0,02	<0,02	<0,02
β -Hydroxybutyrat mg/% (Blut.)											
n	15	15	15	16	17	16	15	15	15	16	15
$\bar{x}$	0,35	0,33	0,33	0,53	0,36	0,44	1,14	0,96	7,26	5,43	6,0
s	0,22	0,16	0,14	0,44	0,32	0,31	1,46	1,73	5,15	5,03	5,69
S.E.M.	0,05	0,04	0,04	0,11	0,08	0,08	0,38	0,45	1,33	1,26	1,47
p				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,001	<0,005	<0,005

N.S. = Nicht signifikant

	Normalpersonen			Diabetiker Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden Serum+Harn negativ			Diabetiker Harn negativ			Diabetiker Serum+Harn positiv		
	0'	60'	120'	0'	60'	120'	0'	60'	120'	0'	60'	120'
Acetacetat + β -Hydroxybutyrat mg/% (Blut)												
n	14	14	13		17	17	15	14	14	14	15	15
$\bar{x}$	0,69	0,63	0,65		0,75	0,88	1,79	1,52	1,13	9,06	6,70	7,85
s	0,27	0,22	0,20		0,54	0,41	1,77	2,02	0,31	6,26	6,09	7,13
S.E.M.	0,07	0,05	0,05		0,13	0,10	0,45	0,54	0,08	1,67	1,57	1,84
p				N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,001	<0,01	<0,005
Acetacetat mg/% (Harn)												
n			14			13			13			16
$\bar{x}$			0,52			0,63			2,16			3,02
s			0,34			0,22			1,18			2,20
S.E.M.			0,09			0,06			0,32			0,55
p						N.S.			<0,001			N.S.
β -Hydroxybutyrat mg/% (Harn)												
n			12			12			14			16
$\bar{x}$			0,32			0,69			1,50			7,68
s			0,20			0,55			1,02			5,27
S.E.M.			0,06			0,16			0,27			1,32
p						<0,05			<0,02			<0,001

Fortsetzung Tab. 2:

	Normalpersonen	Diabetiker		Diabetiker		Diabetiker	
		Serum+Harn negativ	Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden	Harn positiv	Serum+Harn positiv		
		120'	120'	120'	120'		
Acetacetat + β -Hydroxybutyrat mg/% (Harn)							
n	11	11	11	11	11	11	11
$\bar{x}$	0,69	1,23	1,23	3,46	11,52	11,52	11,52
s	0,41	0,64	0,64	1,88	7,34	7,34	7,34
S.E.M.	0,12	0,19	0,19	0,57	1,83	1,83	1,83
p		<0,05		<0,005	<0,005	<0,005	<0,005

Tab. 3: Ketonkörper im Blut: Nachweis mit semiquantitativen Schnellmethoden (Acetest und Ketostix) im Vergleich zu enzymatisch gemessenen Werten. (Angabe der Signifikanz p zum jeweils folgenden Wert bei der Acetest- und Ketostix-Methode)

	Acetest-Methode				Ketostix-Methode			
	negativ	schwach positiv	mittel positiv	stark positiv	negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv
Acetacetat								
mg/% (Blut.)								
n	155	13	3	12	148	27	6	kein
$\bar{x}$	0,48	1,11	2,47	3,53	0,47	1,42	4,78	Nachweis
s	0,32	0,43	0,70	2,10	0,34	0,86	2,31	
S.E.M.	0,02	0,12	0,40	0,60	0,02	0,16	0,94	
p		<0,001	<0,001	N.S.		<0,001	<0,01	
β -Hydroxybutyrat								
mg/% (Blut.)								
n	152	12	4	13	150	28	7	kein
$\bar{x}$	0,76	4,45	10,60	11,10	0,68	6,27	13,20	Nachweis
s	1,10	3,40	3,77	4,69	1,01	4,67	3,28	
S.E.M.	0,08	0,98	1,88	1,30	0,08	0,88	1,24	
p		<0,001	<0,01	N.S.		<0,001	<0,001	
Acetacetat +								
β -Hydroxybutyrat								
mg/% (Blut.)								
n	149	12	3	12	144	28	6	kein
$\bar{x}$	1,19	5,58	12,62	15,08	1,12	7,93	19,19	Nachweis
s	1,15	3,52	4,26	5,76	1,06	5,53	1,54	
S.E.M.	0,09	1,01	2,46	1,66	0,08	1,04	0,63	
p		<0,001	<0,02	N.S.		<0,001	<0,01	

N.S. = Nicht signifikant

Tab. 4: Ketonkörper im Harn: Nachweis mit semiquantitativen Schnellmethoden (Acetest und Ketostix) im Vergleich zu enzymatisch gemessenen Werten. (Angabe der Signifikanzen p zum jeweils folgenden Wert bei der Acetest- und Ketostix-Methode)

	Acetest-Methode				Ketostix-Methode			
	negativ	schwach positiv	mittel positiv	stark positiv	negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv
Acetacetat mg/% (Harn)								
n	28	11	6	11		12	8	6
$\bar{x}$	0,56	2,04	2,53	3,66	0,63	1,96	2,99	4,32
s	0,29	1,04	1,26	2,25	0,42	1,24	1,38	2,47
S.E.M.	0,05	0,31	0,51	0,67	0,08	0,36	0,49	1,01
p		0,001	N.S.	N.S.		0,001	N.S.	N.S.
β -Hydroxybutyrat mg/% (Harn)								
n	24	13	6	10	27	11	8	7
$\bar{x}$	0,53	1,61	3,14	11,64	0,60	1,93	4,65	13,30
s	0,43	1,56	2,36	5,19	0,52	1,70	3,84	4,98
S.E.M.	0,08	0,43	0,96	1,64	0,10	0,51	1,36	1,88
p		0,005	N.S.	0,005		0,001	N.S.	0,01
Acetacetat + β -Hydroxybutyrat mg/% (Harn)								
n	23	12	3	12	24	11	7	7
$\bar{x}$	1,00	3,45	5,90	14,37	1,06	4,01	7,83	17,10
s	0,56	2,54	2,33	6,76	0,70	2,77	4,50	6,25
S.E.M.	0,12	0,77	1,34	2,04	0,14	0,83	1,70	2,36
p		0,001	N.S.	N.S.		0,001	0,05	0,01

N.S. = Nicht signifikant

Tab. 5 : Korrelations- und Regressionskoeffizienten bei Vergleich der Blutglucose, der freien Fettsäuren und des Standardbikarbonates mit den Ketonkörpern, sowie der Blutketone untereinander im Serum. (Angabe der Konfidenzintervalle nur bei Korrelationen ab $r = 0,650$ für $p < 0,05$)
 n = Anzahl der Meßpaare, r = Korrelationskoeffizient, b = Regressionskoeffizient

Normalpersonen	Diabetiker		Diabetiker Gesamtkollektiv	Gesamtkorrelation
	Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden Serum u. Harn negativ	Serum u. Harn positiv		
<u>Blutglucose:Acetacetat</u>				
n 41	50	43	38	172
r 0,376	0,021	0,142	0,083	0,369
b 0,003	0,000	0,000	0,001	0,003
<u>Blutglucose:β-Hydroxybutyrat</u>				
n 42	48	45	41	176
r 0,291	0,147	0,081	0,345	0,505
b 0,003	0,000	0,002	0,019	0,016
<u>Freie Fettsäuren:Acetacetat</u>				
n 38	51	39	39	168
r 0,009	0,333	0,560	0,202	0,452
b 0,006	0,249	0,954	0,575	1,085
<u>Freie Fettsäuren:β-Hydroxybutyrat</u>				
n 40	50	41	38	168
r 0,228	0,465	0,919 (0,85-0,95)	0,573	0,711 (0,62-0,77)
b 0,219	0,629	5,796	5,048	6,079

Fortsetzung Tab. 5:

Normalpersonen	Diabetiker			Diabetiker Gesamtkollektiv	Gesamtkorrelation Diabet. u. Normalp.
	Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden Serum u. Harn negativ	Harn positiv	Serum u. Harn positiv		
<u>Freie Fettsäuren: Acetat+β-Hydroxybutyrat</u>					
n	39	49	39	126	165
r	0,197	0,468	0,905 (0,82-0,94)	0,692 (0,58-0,77)	0,681 (0,59-0,75)
b	0,242	0,945	6,379	7,279	7,162
<u>Acetat: Standardbikarbonat</u>					
n	34	36	39	106	139
r	-0,134	-0,370	-0,136	-0,535	-0,486
b	-2,864	-3,221	-0,691	-1,131	-1,163
<u>β-Hydroxybutyrat: Standardbikarbonat</u>					
n	35	35	41	108	143
r	0,277	-0,243	-0,049	-0,610	-0,538
b	0,018	-0,052	-0,044	-0,966	-0,754
<u>Acetat+β-Hydroxybutyrat: Standardbikarbonat</u>					
n	34	35	39	105	139
r	0,156	-0,314	-0,125	-0,622	-0,551
b	1,826	-1,039	-0,153	-0,314	-0,315

Fortsetzung Tab. 5:

Normalpersonen	Diabetiker			Diabetiker Gesamtkollektiv	Gesamtkorrelation Diabet. u. Normalp.
	Ketonkörpernachweis mit Schnellmethoden Serum u. Harn				
	negativ	Harn positiv	Serum u. Harn positiv		
Acetacetat : β -Hydroxybutyrat (im Blut)					
n	41	49	43	136	177
r	0,107	0,604	0,544	0,749(0,66-0,81)	0,749(0,67-0,80)
b	0,155	1,110	1,885	2,662	2,676

Tab. 6 · Korrelations- und Regressionskoeffizienten bei Vergleichen von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat, sowie der Gesamtketone in Blut und Harn.
(Angabe der Konfidenzintervalle nur bei Korrelationen ab $r = 0,650$)
 n = Anzahl der Meßpaare, r = Korrelationskoeffizient, b = Regressionskoeffizient

	Normalpersonen	Diabetiker	Gesamtkorrelation Diabet. u. Normalp.
<u>Acetacetat(Blut):Acetacetat(Harn)</u>			
n	14	41	55
r	-0,015	0,730(0,54-0,84)	0,751(0,60-0,84)
b	-0,057	1,150	1,209
<u>Acetacetat(Harn):β-Hydroxybutyrat(Harn)</u>			
n	11	38	49
r	0,452	0,583	0,633
b	0,360	1,705	1,798
<u>β-Hydroxybutyrat(Blut):β-Hydroxybutyrat(Harn)</u>			
n	11	42	53
r	-0,203	0,931(0,87-0,96)	0,935(0,89-0,96)
b	-0,288	1,199	1,221
<u>Acetacetat+ β-Hydroxybutyrat (Blut) : Acetacetat+ β-Hydroxybutyrat (Harn)</u>			
n	11	38	49
r	-0,444	0,910(0,83-0,9)	0,917(0,88-0,95)
b	-1,139	1,184	1,225

Tab. 7: Vergleich der Empfindlichkeit von Ketonkörper Schnellbestimmungen im Serum innerhalb verschiedener enzymatisch gemessener Bereiche für Acetacetat und β -Hydroxybutyrat.

Bereiche für Acetacetat + β -Hydroxybutyrat (Blut in mg/%)	0 - 2,5mg/%	2,5 - 9,0mg/%	9,0 - 16,5mg/%	ab 16,5 mg/%
Anzahl der Messungen	136	27	8	6
davon Acetest- -Methode:				
(-)	136	14	-	-
(+)	-	10	2	-
(++)	-	1	2	-
(+++)	-	2	4	6
davon Ketostix- -Methode:				
(-)	132	12	-	-
(+)	4	15	8	-
(++)	-	-	-	6
(+++)	-	-	-	-

Tab. 8: Vergleich der Empfindlichkeit von Ketonkörperperschnellbestimmungen im Harn innerhalb verschiedener enzymatisch gemessener Bereiche für Acetacetat und β -Hydroxybutyrat.

Bereiche für Acetacetat+ β -Hydroxybutyrat (im Harn in mg/%)	0 - 2,0mg/%	2,0 - 5,0mg/%	5,0 - 9,0mg/%	ab 9,0 mg/%
Anzahl der Messungen	23	12	4	10
davon Acetest-Methode:				
(-)	20	3	-	-
(+)	3	7	-	1
(++)	-	2	3	-
(+++)	-	-	1	9
davon Ketostix-Methode:				
(-)	20	4	2	-
(+)	3	5	1	1
(++)	-	3	1	2
(+++)	-	-	-	7

Tab.9: Werte für 3-Hydroxybutyrat in der Literatur in mg%

Autor	Probanden	Anzahl	$\bar{x}$	Bereich	Methode	Bemerkungen
Peden (48)	Kinder	17	0,9	0,00- 2,5	chem.	postprandial
Hergmeyer (8)	Erwachsene	16	0,37	0,14- 0,99	enzym.	postprandial
Bergmeyer (8)	Erwachsene	7	0,94	0,58- 1,71	enzym.	nüchtern
Stark (56)	Erwachsene	5		0,06- 0,52	chem.	12-14 h Hunger
Stark (56)	Erwachsene	5		0,08- 0,33	chem.	"
Sulway (61)	Diabetiker	27		62,4 -114,4	enzym.	Ketoacidose
Watkins (66)	Erwachsene	11		bis 2,08	enzym.	3= Ketoacidose, 1= Niereninsuff.
Watkins (66)	Diabetiker			über 5,2	enzym.	7= Normalpersonen
Watkins (66)	Diabetiker	23		1,66-187,2	enzym.	alle Pat. ketoacidotisch
Knodel (16)	Erwachsene		0,21	0,38- 1,14	enzym.	12-14 h Hunger
Williamson (76)	Erwachsene	16		0,31-6,63	enzym.	12-14 h Hunger

Tab. 10: Werte für Acetacetat in der Literatur. in mg%

Autor	Probanden	Anzahl	$\bar{x}$	Bereich		Methode	Bemerkungen
Peden (48)	Kinder	43	0,3	0 - 2,8	Serum	chem.	postprandial
Rosenthal (52)	Erwachsene	5		0,05 - 0,26	Blut	chem.	
Rosenthal (52)	Erwachsene	5		0,08 - 0,28	Serum	chem.	
Bergmeyer (8)	Erwachsene	16	0,17	0,05 - 0,46	Blut	enzym.	postprandial
Bergmeyer (8)	Erwachsene	7	0,32	0,18 - 0,78	Blut	enzym.	nüchtern
Sulway (61)	Diabetiker	44		15,3 - 55	Blut	chem	Ketoacidose
Shaw (55)	Diabetiker	30		34,6 - 206	Blut	chem.	Acetacetat+Aceton
Watkins (66)	Erwachsene	80		0,82 - 1,22	Blut	chem.	
Knodel (16)	Erwachsene		0,32	0,20 - 0,44	Blut	enzym.	
Williamson (76)	Erwachsene	14		0,15 - 2,30	Blut	enzym.	

Tab. 11: Werte für die Gesamtketone (Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) in der Literatur (mg%)

Werk (73)	Erwachsene	94	0,79	Blut	chem.	Hungerzustand
	Erwachsene	19	0,60	"	"	
	Diabetiker	105	2,22	"	"	Hungerzustand
	Diabetiker	39	1,42	"	"	
	Erwachsene	10	0,98	"	"	entspricht Normalpersonen der vorlieg. Untersuchung (gemessen bei BZ 60-90)
	Diabetiker	10	2,14	"	"	= Gruppe 1 der Diabetiker der vorlieg. Unters. (BZ 200-260)
	Diabetiker	4	2,41	"	"	= Gruppe 3 der Diabetiker der vorlieg. Unters. (BZ 300-375)

Tab.11 Fortsetzung: Werte für Gesamtketone (Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) in der Literatur in %

Autor	Probanden	Anzahl	$\bar{x}$	Bereich	Methode	Bemerkungen
Johnson (32)	Erwachsene	208	0,6	0,76-1,10	Blut	Hunger ca 12 h
Lyon (38)	Erwachsene	4			Blut	

C. Besprechung der Ergebnisse.

1. Ergebnisse der Schnelltests zur Ketonkörperbestimmung (Acetest und Ketostix) im Vergleich zu enzymatischen Methoden.

Die Ergebnisse der Schnellbestimmungen mit Acetest und Ketostix sind aus den Tabellen 3,4,7 und 8 und aus den Abbildungen 1 und 2 zu entnehmen. Zu den Tabellen 3 und 4 ist zu bemerken, daß die Anzahl der Meßproben in den einzelnen Testgruppen nicht vollständig, aber zu einem hohen Prozentsatz der vergleichbaren Gruppe der anderen Schnellmethode entspricht. Obwohl jede Blutprobe mit der Acetest und Ketostix Methode getestet wurde, kam es vor, daß wegen des unterschiedlichen Ansprechens der Schnelltests eine Einteilung in eine andere Gruppe erfolgte. Infolge der verschiedenen Empfindlichkeit der Tests ist es also möglich, daß bei gleichem enzymatisch gemessenen Ketonkörpergehalt die Schnelltests verschieden ansprechen. Erst die Ergebnisse in Tabelle 7 und 8 nehmen auf diesen Umstand Rücksicht; dabei wurden bei verschiedenen "wahren" Ketonkörperbereichen die einzelnen Schnelltests dem Ansprechen nach gegenübergestellt und in die Gruppen "negativ", "schwach", "mittel" bzw. "mäßig" und "stark" positiv eingeteilt.

a) Ergebnisse der Acetest-Methode.

Die Mittelwerte für das Acetacetat liegen im Blut bei "negativem" Ausfall der Acetest-Methode bei $0,48 \pm 0,32 \text{ mg\%}$ ($x \pm s$), bei "schwach" positivem Test bei $1,11 \pm 0,43 \text{ mg\%}$, bei "mittel" positivem Ergebnis bei $2,47 \pm 0,7 \text{ mg\%}$ und bei "stark" positivem Acetest bei $3,53 \pm 2,1 \text{ mg\%}$. Dabei unterscheidet sich nur der Wert bei "mittel" positivem Test nicht signifikant vom Mittelwert des "stark" positiven Test. Alle anderen Werte unterscheiden sich signifikant voneinander ($p < 0,001$) und weisen keine Überschneidungen auf. (Tab. 3)

Das β -Hydroxybutyrat steigt im Gegensatz zum Acetacetat wesentlich stärker an und zwar von einem Mittelwert von $0,76 \pm 1,1 \text{ mg\%}$

im Blut beim "negativen" Testbereich über einen Wert von $4,45 \pm 3$, bei "schwach" positivem Testergebnis auf einen Wert von $11,1 \pm 4,69 \text{ mg\%}$ ($\bar{x} \pm s$) bei "stark" positivem Acetest. Wiederum zeigt der "stark" positive Acetestwert keinen signifikanten Unterschied zum "mittel" positiven Wert des Acetest. Außerdem überlappten sich beide Testergebnisse im Bereich von ca 6,3 bis 8,0 mg% ("mittel" positiv: $10,6 \pm 3,77 \text{ mg\%}$; "stark" positiv: $11,1 \pm 4,69 \text{ mg\%}$). Alle anderen Testergebnisse unterscheiden sich signifikant voneinander ($p < 0,001$; $p < 0,01$) und zeigten nur geringfügige Überschneidungen der Streubereiche. (Tab. 3)

In Tabelle 3 und Abbildung 1 ist die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat aufgetragen. Der Mittelwert bei "negativem" Ergebnis der Acetest-Methode beträgt $1,19 \pm 1,15 \text{ mg\%}$ ($\bar{x} \pm s$), bei "schwach" positivem Test $5,58 \pm 3,52 \text{ mg\%}$, bei "mittel" positivem Testausfall $12,62 \pm 4,26 \text{ mg\%}$ und bei "stark" positivem Test $15,08 \pm 5,76 \text{ mg\%}$. Wiederum unterscheidet sich der "mittel" positive Testwert nicht signifikant vom "stark" positivem Testergebnis. Es zeigt sich eine starke Überschneidung von 9,4 bis 16,7 mg% ("mittel" positiv: $12,62 \pm 4,26 \text{ mg\%}$; "stark" positiv: $15,08 \pm 5,76 \text{ mg\%}$). Alle anderen Werte sind signifikant verschieden ($p < 0,001$ und $p < 0,01$) und zeigen nur noch unbedeutende Überlappungen der Meßbereiche. (Tab. 3, Abb. 4)

Im Harn liegen die Mittelwerte für das Acetacetat bei "negativem" Ausfall der Acetest-Methode bei $0,56 \pm 0,29 \text{ mg\%}$ ($\bar{x} \pm s$), bei "schwach" positivem Test liegt der Mittelwert bei $2,04 \pm 1,04 \text{ mg\%}$, bei "mittel" positivem Test bei $2,53 \pm 1,26 \text{ mg\%}$ und bei "stark" positivem Acetest liegt der Wert bei $3,66 \pm 2,25 \text{ mg\%}$. Die Werte für den "schwach, mittel und stark" positiven Test unterscheiden sich jeweils nicht signifikant voneinander und zeigen starke Überschneidungen im enzymatisch gemessenen Bereich für Acetacetat (Tab. 4). So zeigt sich kein wesentlicher Unterschied bei "schwach und mittel" positivem Testausfall ("schwach" positiv: $2,04 \pm 1,04 \text{ mg\%}$; "mittel" positiv: $2,53 \pm 1,26 \text{ mg\%}$) und beim "mittel und stark" positiven Testausfall ("mittel" positiv: $2,53 \pm 1,26 \text{ mg\%}$; "stark" positiv: $3,66 \pm 2,25 \text{ mg\%}$). Nur die Mittelwerte bei "negativem" und bei "schwach" positivem Testausfall unterscheiden sich signifikant ($p < 0,001$) und zeigen keine Bereichsüberschneidungen.

Die Mittelwerte für das β -Hydroxybutyrat im Harn (Tab. 4) be-
tragen bei "negativem" Ace test $0,53 \pm 0,43$ mg% ($x \pm s$), bei
"schwach" positivem $1,61 \pm 1,56$ mg%, bei "mittel" positivem
 $3,14 \pm 2,36$ mg% und bei "stark" positivem Ausfall der Acetest-
Reaktion $11,64 \pm 5,19$ mg%. Nur der Wert des "schwach" positiven
Tests unterscheidet sich nicht signifikant vom Wert des "negativen"
Acetests. Alle anderen Werte für das β -Hydroxybutyrat im Harn
sind signifikant voneinander verschieden ($p < 0,005$). Es zeigt
der "negative" im Vergleich zum "schwach" positiven Testausfall
("negativ": $0,53 \pm 0,43$ mg%; "schwach" positiv: $1,61 \pm 1,56$ mg%)
und der "schwach" positive zum "mittel" positiven Testbereich
("schwach" positiv: $1,61 \pm 1,56$ mg%; "mittel" positiv: $3,14 \pm 2,36$ mg%)
eine deutliche Überlappung im dazugehörigen enzymatisch ge-
messenen β -Hydroxybutyratwert.

In Abbildung 2 und Tabelle 4 werden die Summe von Acetacetat und
 β -Hydroxybutyrat aufgetragen. Die Mittelwerte steigen dabei von
 $1,00 \pm 0,56$ mg% bei "negativem" Acetest über $3,45 \pm 2,54$ mg% bei
"schwach" positivem und $5,9 \pm 2,33$ mg% bei "mittel" positivem auf
 $14,37 \pm 6,76$ mg% bei "stark" positivem Ausfall der Acetest-Methode
an ($x \pm s$). Nur die Mittelwerte für den "schwach" positiven und
"mittel" positiven Acetest unterscheiden sich nicht signifikant.

b. Ergebnisse der Ketostix-Methode. (Tab.: 3,4; Abb.: 1,2)

Die Mittelwerte für das Acetacetat liegen im Blut bei "negativer"
Ketostix-Methode bei $0,47 \pm 0,34$ mg%, bei "schwach" positivem
Test bei $1,42 \pm 0,86$ mg% und bei "mäßig" positivem Ausfall der
Reaktion bei $4,78 \pm 2,31$ mg% ($x \pm s$). Ein "stark" positives An-
sprechen der Ketostix-Methode konnte bei unserem Untersuchungsgut
nicht festgestellt werden. Alle Mittelwerte unterscheiden sich
signifikant voneinander ($p < 0,001$ bis $< 0,01$). (Tab. 3)
Beim β -Hydroxybutyrat ergibt sich bei "negativem" Testausfall
im Blut ein Mittelwert von $0,68 \pm 1,01$ mg%. Die Mittelwerte
steigen über $6,27 \pm 4,67$ mg% bei "schwach" positivem Test auf
 $13,2 \pm 3,28$ mg% bei "mäßig" positivem Testausfall an ($x \pm s$).

Alle Werte unterscheiden sich signifikant ($p < 0,001$). (Tab. 3)
Im Harn werden bei "negativem" Ketostix-Test $0,63 \pm 0,42$ mg%, bei "schwach" positivem Test $1,96 \pm 1,24$ mg%, bei "mäßig" positivem Test $2,99 \pm 1,38$ mg% und bei "stark" positivem Test $4,32 \pm 2,37$ mg% an Acetacetat gefunden. Nur der Wert des "schwach" positiven Tests ist signifikant vom Wert des "negativen" Testausfalles verschieden ($p < 0,001$). (Tab. 4)

Die Konzentration des β -Hydroxybutyrat im Harn liegt bei "negativem" Test bei $0,6 \pm 0,52$ mg%, steigt über $1,93 \pm 1,7$ mg% bei "schwach" positivem Test und $4,65 \pm 3,84$ mg% bei "mäßig" positivem Ketostix-Test auf $13,3 \pm 4,98$ mg% bei "stark" positivem Test an. Nur der Wert bei "mäßig" positivem Test unterscheidet sich nicht signifikant vom Wert bei "schwach" positivem Test. Alle anderen Werte sind signifikant verschieden ($p < 0,001$ bis $< 0,01$). (Tab. 4)

Die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Blut ergibt bei "negativer" Ketostix-Reaktion $1,22 \pm 1,06$ mg%, bei "schwach" positivem Test $7,93 \pm 5,53$ mg% und bei "mäßig" positivem Testausfall $19,19 \pm 1,54$ mg%. Ein "stark" positiver Testausfall kann nicht nachgewiesen werden. Alle Mittelwerte sind signifikant verschieden ($p < 0,001$). (Abb. 1, Tab. 3)

Im Harn ergibt die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat bei negativem Ketostix $1,06 \pm 0,7$ mg%, bei "schwach" positivem Test $4,01 \pm 2,77$ mg%, bei "mäßig" positivem Test $7,83 \pm 4,5$ mg% und bei "stark" positivem Test $17,1 \pm 6,25$ mg%. Alle Mittelwerte sind signifikant verschieden ($p < 0,001$ bis $< 0,05$) (Abb. 2, Tab. 4)

c. Vergleich der Acetest-Methode in Serum und Harn.

Vergleicht man das Ansprechen der Acetest-Methode im Serum und Harn, kann man feststellen, daß in den verschiedenen Testgruppen zwar eine etwas höhere Acetacetatkonzentration im Harn in den einzelnen Gruppen nachgewiesen wird, diese Werte jedoch nicht signifikant gegenüber den Blutwerten erhöht sind. (Tab. 3, 4)
Wie aus der Tabelle 2 zu ersehen ist, zeigen Kontrollen bei Testbeginn sowie nach 60 min und 120 min keine signifikante Änderung des Acetacetats, des β -Hydroxybutyrats und der Summe beider Parameter. So liegt z.B. der durchschnittliche Blutwert des Acetacetats bei Normalpersonen und Diabetikern mit negativen

Schnelltests bei 0,32 mg% bzw. 0,4 mg% . Der vergleichbare Wert im 2 Stunden Sammelharn beträgt 0,52 mg% bzw. 0,63 mg%.

Der Acetacetatspiegel im Blut und Harn ist bei vergleichbarem Testausfall außer bei "schwach" positivem Acetest mit etwa doppelt so hohem Harnwert in etwa gleich groß (Tab.3,4) Die entsprechenden Mittelwerte betragen im Blut bei "negativem" Test 0,48 mg% und im Harn 0,56 mg%. Die Konzentration steigt im Blut und Harn entsprechend dem Ketosegrad kontinuierlich an und erreicht bei "schwach" positivem Acetest einen Wert von 1,11 mg% im Blut und 2,04 mg% im Harn. Bei "mittel" positivem Acetest beträgt die Acetacetatkonzentration im Blut 2,47 mg% und im Harn 2,53 mg%, um bei "stark" positivem Acetest einen Wert von 3,53 mg% im Blut und im Harn von 3,66 mg% zu erreichen.

Beim β -Hydroxybutyrat fand sich im Blut gleichfalls, entsprechend

dem Grad der Ketose, ein kontinuierliches Ansteigen der Mittelwerte (Tab.2). Bei "negativer" Acetest-Methode beträgt der β -Hydroxybutyratwert im Blut durchschnittlich 0,76 mg%. Die Steigerung der β -Hydroxybutyratkonzentration ist dann bei "schwach" und "mittel" positivem Acetest erheblich; der Wert beträgt im Mittel 4,45 mg% und 10,6 mg%. Bei "stark" positivem Acetest ist dann nur noch ein geringeres Ansteigen des Wertes auf 11,1 mg% zu beobachten. Im Harn dagegen steigen die Werte zunächst sehr langsam an und erreichen bei einem Ausgangswert von 0,53 mg% bei "negativem" Test, einen Wert von 1,61 mg% bei "schwach" positivem Test und 3,14 mg% bei "mittel" positivem Acetest. Es folgt dann ein steiler Anstieg der β -Hydroxybutyratkonzentration auf 11,64 mg% bei "stark" positivem Acetest. (Tab.4) Die β -Hydroxybutyratwerte liegen im Gegensatz zu den Werten des Acetacetats bis auf den Wert des "stark" positiven Tests deutlich unter den entsprechenden Blutkonzentrationen. Weiterhin ist das β -Hydroxybutyrat höher als die Acetacetatwerte im Blut. Die Quotienten aus β -Hydroxybutyrat und Acetacetat im Blut liegen bei "negativem" Acetest bei etwa 1,3 bei "schwach" und "mittel" positivem Test bei etwa 4 bis 4,3 und bei "stark" positivem Acetest bei 3,1. Im Harn zeigt sich ein anderes Bild.

Bei negativem Testausfall sind die Harnkonzentrationen in etwa gleich, bei "schwach" positivem Acetest liegt der Anteil des β -Hydroxybutyrat sogar etwas niedriger als der Spiegel des Acetacetats. Bei "mittel" positivem und "stark" positivem Acetest sind die β -Hydroxybutyratkonzentrationen höher und zwar bei "mittel" positivem Test um den Faktor 1,25 und bei "stark" positivem Test um den Faktor 3,2. (Tab. 3,4).

d. Vergleich der Ketostix-Methode in Serum und Harn. (Tab. 3,4, Abb. 1,2)

Betrachtet man die mit Hilfe der Ketostix-Methode in Blut und Harn gewonnenen Ergebnisse, so liegt der Wert des Acetacetats bei "negativem" Testausfall im Blut (0,47 mg%) im Vergleich zum Harn (0,63 mg%) um 0,2 mg%, bei "schwach" positivem Ergebnis um etwa 0,5 mg% tiefer. Bei "mäßig" positivem Test liegt der Blutwert bei 4,79 mg% und im Harn bei 2,99 mg%. Damit ist der Blutwert des Acetacetats ca 1,6 mal höher als der Harnwert. Ein "stark" positiver Testausfall kann bei Anwendung von Ketostix-Teststreifen nur noch im Harn nachgewiesen werden. Ein entsprechender Vergleich mit den Blutwerten ist hier nicht möglich. Für das β -Hydroxybutyrat ist der Wert bei "negativem" Test im Blut und Harn nicht wesentlich verschieden. Bei "schwach" positivem Ketostix-Test liegt der Spiegel des β -Hydroxybutyrats bei 6,27 mg% im Blut und bei 1,93 mg% im Harn. Bei "mäßig" positivem Test betragen die Werte 13,2 mg% im Blut und 4,65 mg% im Harn. Bei unserem Untersuchungsgut konnte kein Nachweis eines "stark" positiven Ketostix-Testes im Blut erbracht werden. Bei "stark" positivem Ketostix-Test werden im Harn Werte bis zu 13,3 mg% nachweisbar. Wie bei den bei der Acetest-Methode beschriebenen Ergebnissen sind die β -Hydroxybutyratwerte im Blut höher als die Acetacetatwerte ("negativer" Ketostix-Test: Quotient: β -Hob:AcAc ca 1,5; "schwach" positiver Test: Quotient ca 4,4; "mäßig" positiver Test: Quotient ca 2,7). (Tab. 3)

Im Harn liegen die Werte für das Acetacetat und β -Hydroxybutyrat bei "negativem" und "schwach" positivem Test sehr eng zusammen und unterscheiden sich kaum. Bei "mäßig" positivem Test steigt der Wert des β -Hydroxybutyrats im Harn auf 4,65 mg% gegenüber 2,99 mg% für das Acetacetat und erreicht damit einen ca 1,5 mal höheren Wert. Bei "stark" positivem Ketostix-Test steigt der Wert für das β -Hydroxybutyrat sprunghaft an und erreicht einen

Mittelwert von 13,3 mg% gegenüber 4,32 mg% für das Acetacetat (Quotient β -Hob/AcAc etwa 3). (Tab. 4)

e. Vergleich der Acetest-Methode mit der Ketostix-Methode.

Ein Vergleich der Acetest-Methode mit der Ketostix-Methode ist aus den Tabellen 3 und 4 sowie aus den Tabellen 7 und 8 zu ersehen. In den Tabellen 7 und 8 ist bei Angabe fester Bereiche der Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat eine entsprechende Anzahl von Bestimmungen mit der Acetest- und Ketostix-Methode eingeteilt in "negativ", "schwach", "mittel bzw. mäßig" und "stark" positiv - zugeordnet worden. Es zeigt sich eindeutig, daß die Acetest-Tablette sowohl im Serum als auch im Harn empfindlicher reagiert. Nur im Bereich von 0-2,5 mg% im Blut zeigt sich bei 136 Messungen, daß bei allen 136 Proben die Acetest-Methode negativ ausfällt, während von den gleichen Proben bei der Ketostix-Methode bereits 4 Proben "schwach" positiv sind (Tab. 7). Im Bereich von 2,5-9,0 mg% ergibt sich eine eindeutige Verschiebung der Empfindlichkeit zu Gunsten des Acetests. Von insgesamt 27 Messungen fallen bei der Acetest-Methode 14 "negativ", 10 "schwach", 1 "mittel" und 2 "stark" positiv aus. Bei der Ketostix-Methode sind von diesen 27 Proben 12 "negativ" und 15 "schwach positiv". Im Bereich von 9,0-16,5 mg% sind bei der Acetest-Methode 2 "schwach", 2 "mittel" und 4 "stark" positiv, während bei der Ketostix-Methode alle 8 Proben nur "schwach" positiv ausfallen. Im Ketonkörperbereich ab 16,5 mg% im Blut sind beim Acetest alle 6 Messungen "stark" positiv, beim Ketostix-Test sind diese Proben nur "mäßig" positiv.

Ein Vergleich der Empfindlichkeit der Acetest- und Ketostix-Methode im Harn ergibt im Bereich von 0-2,0 mg% bei insgesamt 23 Proben für die Acetest- und Ketostix-Methode dasselbe Ergebnis, 20 mal einen "negativen" Ausfall und 3 mal ein "schwach" positives Ergebnis (Tab. 8). Im Bereich von 2-5 mg% sind bei 12 Messungen bei der Acetest-Methode 3 "negativ", 7 "schwach" und 3 "mäßig" positiv, während beim Ketostix-Test nur 4 "negativ", 5 "schwach" und 3 "mäßig" positiv sind. Im Ketonkörperbereich von 5-9 mg% zeigt sich folgende Verteilung: Bei 4 Proben sind bei der Acetest-Methode 3 "mittel" und 1 "stark" positiver Testausfall zu beobachten. Bei der Ketostix-Methode sind immer

noch 2 Messungen "negativ", 1 "schwach" und 1 "mäßig" positiv. Im Bereich ab 9 mg% sind bei der Acetest-Methode 1 "schwach" und 9 "stark" positive Ergebnisse zu beobachten, bei der Ketostix-Methode sind von diesen Proben 1 "schwach", 2 "mäßig" und 7 "stark" positiv.

Auch aus der Tabelle 3 und 4 und aus den Abbildungen 1 und 2 ist die unterschiedliche Empfindlichkeit der beiden Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung zu ersehen. Die Anzahl der Meßproben, die in den Tabellen unter den jeweiligen Ketonkörperkonzentrationen aufgeführt sind, entsprechen sich wegen der unterschiedlichen Empfindlichkeit bei der Acetest- und Ketostix-Methode nicht vollständig. Am deutlichsten zeigt sich dieser Empfindlichkeitsunterschied bei "stark" positivem Acetest und Ketostix im Serum. Während hier bei der Acetest-Methode noch Meßproben ansprechen, kann bei der Ketostix-Methode kein "stark" positiver T_g-Ausfall beobachtet werden.

2. Ergebnisse der Bestimmung der einzelnen Stoffwechselfparameter.

Aus praktischen Gründen erfolgt die Einteilung des Patientenkollektivs in folgende Gruppen: Normalpersonen, Diabetiker mit negativem Schnelltest in Serum und Harn, Diabetiker mit nur im Harn positiven Schnellmethoden und Diabetiker mit positiven Schnellmethoden in Serum und Harn.

a. Acetacetat

Das Verhalten des Acetacetat im Blut und Harn ist aus der Tabelle 2 ersichtlich. Die Acetacetatkonzentrationen liegen bei Normalpersonen im Blut bei 0,33 mg%, bei 60 min bei 0,3 mg% und bei 120 min bei 0,32 mg% und zeigen während der Untersuchung keine signifikante Änderung. Bei den Diabetikern der Gruppe 1 beträgt der Mittelwert des Acetacetats bei Untersuchungsbeginn 0 min 0,39 mg%, bei 60 min 0,38 mg% und zeigt bei 120 min einen Anstieg auf 0,44 mg%. Nur dieser Wert ist signifikant vom 120 min Wert der Normalpersonen verschieden ($p < 0,02$). Bei Gruppe 2 der Diabetiker fallen die Werte ausgehend von 0,72 mg% auf 0,58 mg% bei 60 min und auf 0,49 mg% bei 120 min ab. Nur der Wert bei 0 min unterscheidet sich signifikant ($p < 0,02$) vom Wert der vorhergehenden Gruppe. In Gruppe 3 der Diabetiker sind

praktisch keine großen Schwankungen während der Testdauer nachweisbar. Die Werte liegen bei durchschnittlich 1,7 mg% und unterscheiden sich damit signifikant vom vergleichbaren Wert der Vorgruppe ($p < 0,02$)

Im Sammelharn bertagen die Mittelwerte für das Acetacetat bei den Normalpersonen 0,52 mg%, bei Gruppe 1 der Diabetiker 0,63 mg%, bei Gruppe 2 2,16 mg% und bei Gruppe 3 3,02 mg%. Die Werte der Gruppe 2 und 3 sind signifikant vom Wert der Gruppe 1 der Diabetiker verschieden ($p = 0,001$).

Bei Vergleich der Mittelwerte des Acetacetats in Blut und Harn ergibt sich folgendes: Im Harn liegt der Mittelwert für das Acetacetat (0,52 mg%) etwa 1,7 mal höher als der Blutwert (0,32mg%).

b. β -Hydroxybutyrat

Die Werte für das β -Hydroxybutyrat können ebenfalls aus Tabelle 2 entnommen werden. Die Mittelwerte liegen für das β -Hydroxybutyrat bei den Normalpersonen bei 0,35 mg% durchschnittlich, bei den Diabetikern der Gruppe 1 liegt der Mittelwert bei 0 min bei 0,53 mg%, bei 60 min bei 0,36 mg% und bei 120 min bei 0,44 mg%. Bei den Diabetikern der Gruppe 2 liegt der Mittelwert bei Untersuchungsbeginn bei 1,14 mg%, bei 60 min bei 0,96 mg% und bei 120 min bei 1,11 mg%. In der Gruppe 3 der Diabetiker liegt der Wert für das β -Hydroxybutyrat bei 0 min bei 7,26 mg%, bei 60 min bei 5,43 mg% und bei 120 min bei 6,0 mg%. Auffällig ist, dass der 60 min Wert bei den Diabetikern immer geringfügig abfällt, um dann bei 120 min wieder etwas anzusteigen. Der Ausgangswert wird jedoch nicht mehr erreicht. Bei den Normalpersonen bleibt der Wert über die 2 Stunden der Untersuchungszeit praktisch konstant. Nur in Gruppe 3 der Diabetiker unterscheiden sich die Werte signifikant von den entsprechenden Werten der Vorgruppe ($p < 0,05, < 0,02, < 0,001$) Bei einem Vergleich der Mittelwerte des Bluts mit den Mittelwerten des Harnes findet sich bei Normalpersonen eine nur unwesentlich geringere Konzentration des β -Hydroxybutyrats im Harn. Bei den Diabetikern ergibt sich durchschnittlich eine etwa von 1,3-1,9 mal höhere Harnkonzentration an β -Hydroxybutyrat.

c. Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat.

Die Werte für die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat können aus der Tabelle 2 und der Abbildung 4 entnommen werden. Die Mittelwerte bei Normalpersonen im Blut schwanken während des Untersuchungszeitraumes von 0,63 bis 0,69 mg%, bei Diabetikern der Gruppe 1 von 0,75 bis 0,92 mg% (Tab. 2). Bei Diabetikern der Gruppe 2 liegen die Mittelwerte bei Versuchsbeginn bei 1,79 mg%, nach 60 min bei 1,52 mg% und nach 120 min bei 1,13 mg%. Bei Gruppe 3 der Diabetiker liegt der Mittelwert bei Testbeginn bei 9,06 mg%, nach 60 min bei 6,7 mg%, um nach 120 min wieder auf einen Wert von 7,85 mg% anzusteigen. Nur die Mittelwerte der Gruppe 3 unterscheiden sich signifikant ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,005$) von den entsprechenden Werten der Gruppe 2 und somit natürlich auch gegenüber der Gruppe 1 und der Gruppe der Normalpersonen. Die Blutketonkörper der anderen Untersuchungsgruppen zeigen untereinander keine signifikanten Unterschiede.

Die Mittelwerte für die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Harn ergeben bei Normalpersonen 0,69 mg%, bei Gruppe 1 1,23 mg% bei Gruppe 2 3,46 mg% und bei Gruppe 3 11,52 mg%. Im Gegensatz zum Blut zeigt sich hier durchwegs ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$, $p < 0,005$, $p < 0,005$) bei Vergleich der einzelnen Gruppen. (Tab. 2)

Bei einem Vergleich der Mittelwerte in Blut und Harn findet sich bei Normalpersonen eine fast gleiche Ketonkörperkonzentration (Tab.2, Abb.4). Bei Diabetikern steigt der Wert im Harn wesentlich stärker an und erreicht bei Gruppe 1 einen um etwa 1,5 mal höheren Wert, bei Gruppe 2 der Diabetiker einen um 1,93 bis 3 mal höheren Wert und bei Gruppe 3 einen um 1,27 bis 1,72 mal höheren Wert im Vergleich zum Vollblut.

d. Vergleich von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat (Tab.2, Abb.4)

Bei einem Vergleich des Acetacetats und des β -Hydroxybutyrats im Blut stellt man fest, daß bei den Normalpersonen im Blut in etwa die gleiche Konzentration an Acetacetat und β -Hydroxybutyrat erreicht wird. Bei Diabetikern der Gruppe 1 steigt dann das β -Hydroxybutyrat stärker an. Es kann jedoch keine signifikante Erhöhung der β -Hydroxybutyratkonzentration gegenüber der Acet-

acetatkonzentration festgestellt werden (Tab.2). Der Quotient β -Hydroxybutyrat:Acetacetat schwankt bei Stoffwechselgesunden von 1 bis 1,06, bei Diabetikern der Gruppe 1 von 0,94 bis 1,36, bei Gruppe 2 von 1,6 bis 2,2. In der Gruppe 3 der Diabetiker zeigt sich ein sprunghafter Anstieg der β -Hydroxybutyratwerte im Blut im Vergleich zu den Werten des Acetacetat (0 min:7,26mg% 60 min:5,43 mg%, 120 min:6,0 mg%). Die Acetacetatwerte liegen bei dieser Gruppe wesentlich tiefer und erreichen bei 0,60 und 120 min 1,71mg%, 1.70mg% und 1,79 mg%. Hier sind die Quotienten aus β -Hydroxybutyrat und Acetacetat am höchsten (4,25; 3,2 und 3,78). Im Harn dagegen liegen die β -Hydroxybutyratwerte bei Normalpersonen niedriger als die Acetacetatwerte (Tab.2). Der Wert des β -Hydroxybutyrats beträgt 0,32 mg% gegenüber einer Acetacetatkonzentration von 0,52 mg%. Bereits bei Gruppe 1 der Diabetiker liegt jedoch der Harnwert des β -Hydroxybutyrats (0,69mg%) über dem Wert des Acetacetats (0,63mg%). Bei Gruppe 2 der Diabetiker liegt der Harnwert für das β -Hydroxybutyrat wiederum tiefer und erreicht nur 1,5 mg% gegenüber einem Acetacetatwert von 2,16 mg%. Gruppe 3 der Diabetiker zeigt einen deutlichen Anstieg der β -Hydroxybutyratkonzentration auf 7,68 mg% gegenüber einer Konzentration des Acetacetats von 3,02 mg%. Die Quotienten schwanken von 0,6 bei Stoffwechselgesunden, 1,1 bei Gruppe 1, 0,69 bei Gruppe 2 bis zu 2,54 bei Gruppe 3 der Diabetiker.

e. Blutglucose

Das Verhalten der Blutglucose ist aus Tabelle 1 und Abbildung 3 ersichtlich. Die Mittelwerte betragen bei Normalpersonen durchschnittlich 77 mg%. Die Werte steigen dann bei den Diabetikern der Gruppe 1 bei 0,60 und 120 min auf Werte von 217,2 mg%, 215,2mg% und 195,6 mg%. Bei Gruppe 2 betragen die Blutglucosekonzentrationen bei 0,60 und 120 min 274,2 mg%, 254,9 mg% und 255 mg%. Bei Gruppe 3 steigen die Konzentrationen weiter an und erreichen bei 0,60 und 120 min Werte von 345,7 mg%, 327,4 mg% und 319,4 mg%. Die Mittelwerte der Gruppe 3 unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) von den entsprechenden Werten der Vorgruppe. Ebenfalls signifikant ($p < 0,001$) unterscheiden sich die Werte der Gruppe 1 von den Werten der Normalpersonen. Bei einem Vergleich der Werte der Gruppe 1 und 2 ist nur der Wert bei Ver -

suchsbeginn und nach 120 min signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$). Es ist weiterhin ein regelmäßiger Abfall der Blutglucosekonzentration in jeder Untersuchungsgruppe von 0 über 60 und 120 min zu beobachten. Bei den Diabetikern fällt dabei der Blutzuckerspiegel um jeweils etwa 25 mg% ab, während bei den Stoffwechselgesunden der Blutzuckerspiegel nur um ca 3 mg% abfällt.

f. freie Fettsäuren.

Das Verhalten der freien Fettsäuren ist ebenfalls aus Tabelle 1 und Abbildung 3 zu ersehen. Die Mittelwerte liegen bei den Normalpersonen zu den Zeiten 0, 60 und 120 min bei 0,36 mval/l, 0,37 mval/l und 0,34 mval/l. Bei Gruppe 1 betragen die Werte bei 0, 60 und 120 min 0,35 mval/l, 0,31 mval/l und 0,36 mval/l. Die Mittelwerte der Diabetiker der Gruppe 1 unterscheiden sich nicht signifikant von den Werten der Normalpersonen. Ebenfalls ähnliche Werte zeigen die Diabetiker der Gruppe 2 (0,31 mval/l, 0,29 mval/l, 0,33 mval/l). Die Werte unterscheiden sich wiederum nicht signifikant von den Werten der Vorgruppe. Bei Gruppe 3 der Diabetiker steigen die Konzentrationen der freien Fettsäuren sprunghaft an und liegen bei 0, 60 und 120 min bei 0,86 mval/l, 0,82 mval/l und 0,99 mval/l. Erst jetzt unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant von den Werten der vorhergehenden Gruppe ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,005$).

g. Standardbikarbonat und pH-Wert.

Die Werte für das Standardbikarbonat und für das Blut-pH sind aus Tabelle 1 und Abbildung 3 zu ersehen. Bei Normalpersonen und Diabetikern läßt sich kein wesentlicher Unterschied des pH-Wert nachweisen. Die Mittelwerte liegen bei Normalpersonen bei 0, 60 und 120 min bei 7,337; 7,334; und 7,352. Die Werte betragen bei Gruppe 1 zu den einzelnen Zeiten 7,335; 7,337 und 7,345, bei Gruppe 2 bei 0, 60 und 120 min 7,309; 7,336 und 7,319 und bei Gruppe 3 7,319; 7,355 und 7,337 (Tab. 1).

Das Standardbikarbonat liegt bei Normalpersonen bei 0, 60 und 120 min bei 21,6 mal/l, 21,6 mval/l und 22 mval/l. Bei den Diabetikern der Gruppe 1 betragen die Werte bei 0 min 21,1 mval/l, bei 60 min 22,2 mval/l und bei 120 min 22,3 mval/l. Bei Gruppe 2 ergeben sich folgende Werte: Bei Versuchsbeginn 22,0 mval/l, 60 min 21,5 mval/l

und 120 min 21,5 mval/l. Bei Gruppe 3 zeigt sich ein Abfall der Standardbikarbonatwerte auf 19,1 mval/l bei 0 min, 19,2 mval/l bei 60 min und 19,8 mval/l bei 120 min. Der Wert bei 0 und 60 min unterscheidet sich signifikant ($p < 0,02$) von den entsprechenden Werten der Vorgruppe. Der 120 min Wert zeigt keinen signifikanten Unterschied.

h. Ergebnisse der Korrelationsrechnung.

Mit Hilfe der Korrelationsrechnung werden die Einzelwerte der vorliegenden Untersuchung in Beziehung gesetzt. Die Ergebnisse können aus Tabelle 5 und 6 und Abbildung 5 und 6 entnommen werden. Es werden dabei nicht nur die Werte der Ketonkörper in Blut und Harn untereinander verglichen, sondern es wird auch versucht, eine etwaige Beziehung zu anderen Stoffwechselparametern wie Blutglucose, Standardbikarbonat und freie Fettsäuren zu finden. Bei Vergleich der Werte der Blutglucose und des Acetacetats ergibt sich bei einem Gesamtkollektiv von 172 Wertepaaren keine gute Korrelation. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,369. Ebenfalls keine gute Korrelation ergibt ein Vergleich der Werte des β -Hydroxybutyrats mit den Blutglucosewerten ($r = 0,505$, $n = 176$)

Bei Vergleich der freien Fettsäuren mit den Werten der Ketonkörper ist für das Acetacetat beim Gesamtkollektiv und in den einzelnen Gruppen keine feste Beziehung erkennbar. ($r = 0,431$). Beim β -Hydroxybutyrat zeigt sich bei 168 Wertepaaren eine ausreichende Korrelation von $r = 0,711$ (Konfidenzintervall 0,62 - 0,77). Die Werte der Normalpersonen sind bei diesem Vergleich bei einem Koeffizienten von 0,228 nicht korreliert. Zu beachten ist, daß bei Vergleich der Werte des β -Hydroxybutyrats der Gruppe 1 der Diabetiker mit den Werten der freien Fettsäure eine sehr gute Korrelation mit einem Koeffizienten von 0,919 (Konfidenzintervall 0,85-0,95) besteht.

Vergleicht man die Werte für das Standardbikarbonat mit den einzelnen Ketonkörpern, so kann für das Acetacetat und für das β -Hydroxybutyrat keine gute Korrelation gefunden werden. Der Vergleich des Acetacetats mit dem Standardbikarbonat ergibt bei 138 Wertepaaren $\times$

einen Koeffizienten von $r = -0,486$ und der Vergleich des β -Hydroxybutyrats mit dem Standardbikarbonat einen Koeffizienten von $r = -0,538$. Bei Vergleich der Ketonkörper im Blut untereinander zeigt sich beim Gesamtkollektiv von 177 Wertepaaren ein Koeffizient von $r = 0,749$ (Konfidenzintervall $0,67-0,80$). Die Werte der Normalpersonen ergeben wiederum keine gute Übereinstimmung. Im Harn sind die Verhältnisse ähnlich ($r = 0,6,33$ bei $n = 49$). Die Werte der Ketonkörperkonzentrationen in Blut und Harn deuten bei Vergleich der einzelnen Komponenten und der Gesamtketone, wie zu erwarten war, auf eine gute Korrelation hin (Gesamtkollektiv: $r = 0,751; 0,935; 0,917$). Wiederum zeigen die bei Stoffwechselgesunden erhaltenen Werte keine Beziehung (Tab. 6).

IV. DISKUSSION

A. Besprechung des vorliegenden Schrifttums

Bei der Besprechung der vorliegenden Literatur erscheint es sinnvoll, sie in 2 Gruppen einzuteilen. Ein Teil der Autoren befaßt sich im wesentlichen mit der Methodik der Ketonkörpernachweise, während sich eine zweite Gruppe mit der Bedeutung der Nachweise für Klinik und Praxis befaßt und sich außerdem mit der Beziehung der Ketonkörper zu anderen Stoffwechselmetaboliten beschäftigt. Zur Bestimmung der Ketonkörper können mehrere Methoden benutzt werden. Eine der ersten unter diesen Nachweisen war die von Gerhardt 1865 vorgestellte Eisenchloridprobe, die sich als sehr störanfällig und unspezifisch zeigte (25). So wurden falsch positive K_{e} sultate durch Salicylate, Phenole und Antipyrin hervorgerufen, (21,51,65). Man verließ daher bald diesen unspezifischen Test und ging auf eine Probe über, die von Legal 1884 erstmals veröffentlicht wurde(37). Legal beobachtete damals, daß die Weyl'sche Reaktion auf Kreatinin auch mit Aceton eine Farbreaktion ergab. Rothera verbesserte 1908 den von Legal angegebenen Test, indem er neutrale Ammoniumsalze zusetzte, um die Intensität der Farbe zu steigern. Dieser Test wurde 1915 von Mary Wishart klinisch getestet. Ihre Ergebnisse wurden jedoch nicht veröffentlicht. 1920 berichtete dann Allen in einer Studie darüber. Der Test wurde als Rothera-Wishart-Test (Natriumnitroprussidreaktion) bekannt. Lee und Duncan (36) veröffentlichten 1950 eine Arbeit, in der sie die Methode für den Routinebetrieb in Klinik und Praxis empfehlen. Duncan sah in dieser Methode nicht nur eine diagnostische Hilfe, um eine diabetische Ketoacidose zu erkennen, sondern er entwickelte auch ein Schema, mit dem er die notwendige Insulingabe je nach Ansprechen der Farbreaktion bestimmen konnte. Es wurden damals jedoch keinerlei quantitative Bestimmungen durchgeführt. Erst 1962 entwickelte Williamson und Mellanby(76) eine enzymatische Methode, mit der Acetacetat und β -Hydroxybutyrat quantitativ nachgewiesen werden konnte. Jahre vor diesem Zeitpunkt hatten zahllose Autoren versucht, mit den verschiedensten chemischen Methoden und Modifizierungen bereits bestehender Nachweise Acetacetat und β -Hydroxybutyrat nachzuweisen. Auf eine de-

taillierte Aufzeichnung dieser Veröffentlichungen wird hier verzichtet.

Die Empfindlichkeit der Natriumnitroprussidreaktion ist für Acetacetat wesentlich größer als für Aceton(19,45,65). Da aber im Blut nur geringste Mengen von Aceton im Vergleich zum Acetacetat vorkommen, weist man mit dieser Reaktion in der Hauptsache Acetacetat nach. Einige Autoren haben über den Prozentgehalt von Aceton und Acetacetat im Blut und Serum und über die kleinsten Mengen dieser Stoffe, die nötig sind, um mit dieser Reaktion nachgewiesen zu werden, Untersuchungen angestellt.(19,20,21,51). Sehr hohe Konzentrationen von Kreatinin, wie sie in der Praxis kaum vorkommen, können falsch positive Resultate verursachen(65). Die Konzentration von Aceton und Acetacetat, die mit der Nitroprussidnatriumreaktion gerade noch nachweisbar ist, gibt Nash(45) mit 5 mg% für Acetacetat und 25 mg% für Aceton an. Diese Reaktion bildet die Grundlage für die zur Ketonkörperbestimmung gebräuchlichen Schnellmethoden Acetest und Ketostix.

Bei der Testung von Acetest wurde eine Standardisation der Reaktion erarbeitet (19,45). Dabei ergaben Vergleiche der Acetest-Methode mit der Ketostix-Methode, getestet mit negativen Harnen, welchen eine vorbestimmte Menge an Acetacetat zugefügt wurde, daß die Methoden im Harn gleich empfindlich sind und beide Methoden bei allen Acetacetatkonzentrationen übereinstimmen(19). Im Gegensatz dazu verweist Watkins (65) darauf, daß der Test im Urin nur von begrenztem Wert sei, da öfters ein stark positiver Ketostix-Test im Harn mit einem niedrigen Blutketonkörper Spiegel korreliert sei. Außerdem weist Watkins darauf hin, daß sich in den Gruppen seiner Untersuchung, eingeteilt in "schwach", "mäßig" und "stark" positiver Ketostix-Test, teilweise erhebliche Überlappungen im dazugehörigen enzymatisch bestimmten Ketonkörpergehalt ergaben. Statt der vorgeschriebenen 15 Sekunden sollte man den Test erst nach 30 Sekunden ablesen, da man nach dieser Zeit ein besser detailliertes Ergebnis erreiche(65). Weiter ist zu beachten, daß bei renaler Insuffizienz, wie sie bei Diabetiker häufig vorkommt, keinerlei Ketonurie auch bei schweren Ketoacidosen vorzuliegen braucht(13,65). Bradley wies in Untersuchungen nach, daß die Totalketone 50-70 mg% betragen können, ohne daß Ketonurien auftreten. Deshalb

sollte der Nachweis nur im Blut erfolgen (13,65). Der Grad der Ketonurie ist irreführend, da beim Sistieren der Ketonkörperbildung stark positive Reaktionen solange vorkommen können, bis im Blut die Ketonkörper fast vollständig eliminiert sind. Wenn daher die Ketonurie als Maßstab für die Therapie benützt wird, sind Überdosierungen von Insulin unvermeidlich (34). Watkins gibt in seiner Untersuchung an (65), daß er die Bedeutung der Ketostix-Methode im Wesentlichen in der Unterscheidung echter Fälle einer schweren Ketoacidose von nichtketotischen Patienten sehe. Als Orientierungsschema benützt er folgende Aufstellung zur Beurteilung des Ketonkörpergehaltes in Harn und Serum:

Ketostix +++ - immer eine Ketoacidose;

Ketostix ++ - gewöhnlich eine Ketoacidose;

Ketostix + - keine ernste Ketoacidose;

Übereinstimmend legen mehrere Autoren den geringsten Gehalt an Ketonkörpern fest, der mit der Acetest- und Ketostix-Methode noch eine Reaktion hervorruft: Acetacetat 5 mg% im Harn (21,51); Acetacetat 10 mg% im Serum (21,51). Die Bestimmung des Acetacetat erfolgte dabei mit chemischen Methoden.

Störungen kommen bei den Methoden gewöhnlich nicht vor. Ein Autor (51) testete 68 Medikamente auf ihren Einfluß auf die Tests, konnte jedoch keine Störung feststellen. Bei der Ketostix-Methode können Phthalylverbindungen, Phenylketone, 8-Hydroxychinolin (Harnkonservierung) (29) und Levadopa, sowie Dopamin (49) falsch positive Resultate hervorrufen. Ein Vergleich von Acetest und Ketostix zeigt, daß die Ketostix-Methode bei 100 Messungen nur 92 Ketonkörper anzeigte, Acetest dagegen in 99 Fällen (51).

Der Begriff der Ketose wurde zuerst von Poulton 1918 geprägt und benutzt, um die metabolische Acidose mit Vorliegen einer Ketonämie und Ketonurie zu beschreiben. Heute fordern noch viele Autoren, die Diagnose einer diabetischen Acidose vom Auftreten der Ketonkörper abhängig zu machen. Watkins (66) stellt fest, daß Ketonkörper im Harn bei insulinspritzenden Diabetikern immer auf einen schlecht eingestellten Diabetes hinweisen. In der gleichen Untersuchung wird jedoch darauf hingewiesen, daß die Ketonurie oft irreführend ist und sich deren Bedeutung mit der Tageszeit verändert. So wies Watkins nach, daß ein schneller

Anstieg des Blutzuckers und der β -Hydroxybutyratwerte in den Stunden vor dem Frühstück zu beobachten ist, wenn die Insulinwirkung abnimmt. Er stellt fest, daß eine zu diesem Zeitpunkt gefundene Glykosurie und Ketonurie auf einen schweren Diabetes mellitus hinweisen (64).

Das Ansteigen der Ketone im Blut wird nach Duncan und Lee (36) durch eine vermehrte Ketonkörperbildung hervorgerufen. Diese Überproduktion führt dazu, daß diese Stoffe von der Niere nicht mehr ganz ausgeschieden oder von den Geweben nicht mehr verbraucht werden können. Wenn die maximale Ausscheidung durch die Niere und eine nicht mehr zu steigernde Utilisation durch das Gewebe erreicht ist, beginnen sich die Ketonkörper im Blut anzureichern und es erscheinen nachweisbare Mengen dieser Stoffe im Blut. Fraser et al. (19) legen in Übereinstimmung mit Duncan (36) in ihrer Untersuchung fest, daß zuerst eine steigende Menge von Ketonkörpern im Urin ausgeschieden wird, bevor es zu einem stärkerem Anstieg im Blut kommt. So gibt nach Meinung dieser Autoren der Urintest in einem früheren Stadium, der Bluttest in einem späterem Stadium der Erkrankung einen besseren Hinweis auf eine diabetische Ketoacidose (19). Von besonderem Wert erscheint die Möglichkeit einer Schnelldiagnose bei bewußtlosen Patienten. Duncan (36) fordert deshalb, bei bewußtlosen Patienten in jedem Fall die Nitroprussidnatriumreaktion durchzuführen. Stark positive Ergebnisse sind bei seinen Untersuchungen sowie bei Page (46) nur bei der diabetischen Ketoacidose vorgekommen. Man kann so ein Koma bei Hyperglykämie von komatösen Zuständen bei Hyperglykämie ohne Ketoacidose (hyperosmolares Koma), Urämie oder cerebrall-vaskulären Schäden unterscheiden. Rieker et al (51) weisen in einer Tabelle darauf hin, daß Ketonurien nicht nur bei Diabetes mellitus, sondern auch bei einer Reihe von anderen Erkrankungen vorkommen. Diese Tabelle sei hier wiedergegeben:

Anzahl der beobachteten Ketonurien bei folgenden Erkrankungen
(100 Fälle)

Fieber	36
Erbrechen	25
Exsikkose	15
Fehlernährung, Alkoholismus	12
Hypoventilation	10
Hyperventilation	1

.Diabetische Acidose	4
Zustand nach Operation	7
Unbekannte Genese	19

Die Summe aller Fälle ergibt mehr als 100, da einige Patienten gleichzeitig mehrere Ursachen für eine Ketonurie zeigten. Schwere Ketoacidosen mit starker Ketonurie kommen aber nur beim Diabetes mellitus vor. Neben der Anamneseerhebung, der Bestimmung der Blutglucose und der Glucoseausscheidung im Harn sowie der klinischen Symptomatik ist die Ketonkörperschnellbestimmung im Harn, besser noch im Harn und Blut zur Diagnosestellung eines Praecoma oder Koma diabeticum obligatorisch.

Watkins stellt in seinen Untersuchungen fest, daß keine gute Korrelation zwischen Blutzucker und den Ketonkörpern im Serum besteht (66,67). So kann eine deutliche Ketoacidose mit einer vergleichsweise geringen Hyperglykämie und ebenso eine schwere Hyperglykämie oft mit normalen Blutketonen einhergehen (67). Diese Beobachtungen sind nicht unerwartet, da die Ketogenese von der Lipogenese beeinflußt wird und diese wiederum zu einem hohen Prozentsatz von der Glucoseutilisationsrate abhängt, die jedoch nicht vom Blutzuckerspiegel repräsentiert wird. Duncan und andere Autoren berichten jedoch von Untersuchungen(13,36,46), die zeigen, daß die Insulinsensibilität mit der Abnahme der Ketonämie wieder zunahm. In der Frage des Zusammenhanges der freien Fettsäuren mit den Ketonen herrscht bei den Autoren keine einheitliche Meinung. So fanden Watkins und Werk(68,71), daß die freien Fettsäuren nicht mit den Ketonen korreliert sind. Sie sehen nur bei Hungerzuständen einen exponentiellen Zusammenhang zwischen beiden Parametern(68,71). Watkins führt in seiner Untersuchung aus, daß gerade bei Patienten mit starker Ketoacidose die Fettsäuren einigemale niedriger waren, als bei Patienten mit einer weniger starken Ketonämie. Es muß jedoch betont werden, daß bei keinem Untersucher mehr als 10 Patienten beobachtet wurden. Die Korrelationskoeffizienten schwankten bei diesen Kollektiven von nur wenigen gepaarten Werten der freien Fettsäuren und der Ketonkörper zwischen 0,5-0,68 (71). Watkins fand nur bei einem Kollektiv aus Diabetikern, hungernden Patienten und Normalpersonen eine gute Korrelation. Watkins berichtet, daß er eine enge Beziehung zwischen Ketonen und den Fettsäuren erwartet hätte,

da die freien Fettsäuren das wichtigste Substrat der Ketonkörpersynthese in der Leber darstellen und eine verstärkte Ketogenese von der zunehmenden Mobilisation der freien Fettsäuren aus peripheren Fettdepots abhängig ist (67). Von großem Interesse erscheint auch die Feststellung Werks (71), daß erhöhte Ketonkörperspiegel im Blut oft mit normalen Fettsäurewerten einhergingen. Als Erklärung gibt er an, daß die Ketonkörperproduktion in der Leber zwar durch einen Anstieg der freien Fettsäuren gesteigert werden kann, aber bei einem erhöhtem Angebot an freien Fettsäuren zuerst die Ketonkörperbildung in der Leber ansteigt und sich erst später die Fettsäurespiegel im Blut erhöhen. Foster (18) erklärt diese Vorgänge folgendermaßen: Bei seinen Versuchen an hungernden Patienten stellte er fest, daß die gesteigerte und beschleunigte Ketogenese einen Anstieg der Blutketone zur Folge hat, ohne daß eine gleichzeitige und gleichzusetzende Veränderung der Fettsäureoxydation durch das Lebergewebe stattfindet. Bei seinen Versuchen fällt die Fettsäuresynthese gleichzeitig mit dem Anstieg der Acetacetatproduktion ab und die gedrosselte Lipogenese leitet eine Überproduktion von Ketonkörpern in der Leber ein (18).

Zu der Frage der Beziehung von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Blut und Harn nimmt Passmore in seiner Untersuchung Stellung (47). Bei leichter Ketose ist gewöhnlich Acetacetat der dominierende Ketonkörper im Blut und Harn. Bei schweren Fällen der Ketoacidose steigt der Anteil des β -Hydroxybutyrats stark an und wird zur Hauptkomponente. Die Nitroprussidnatriumreaktion ist daher schlecht für die Diagnose einer schweren Ketoacidose geeignet, da mit dieser Reaktion nur das Acetacetat bestimmt wird. Die Niere behandelt beide Ketonkörper unterschiedlich. Die Korrelation zwischen Acetacetat im Blut und Harn ergibt graphisch dargestellt eine Gerade. β -Hydroxybutyrat wird von der Niere als Schwellensubstanz behandelt. Bei geringer Ketose erscheint nur wenig, bei schwerer Ketoacidose eine große Menge β -Hydroxybutyrat im Harn. Die graphische Darstellung ergibt demnach eine stark konvex gekrümmte Kurve, wenn die Werte für das β -Hydroxybutyrat auf der X-Achse aufgetragen werden. Die Korrelation von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Blut wurde von Menahan (43) bei Wiederkäuern untersucht. Der Untersucher fand eine logarithmische Korrelation für diese beiden Ketonkörper. Eine Übertragung auf

menschliche Verhältnisse ist nicht möglich, da bei Wiederkäuern größere Mengen von Ketonkörpern auch bei normalem Stoffwechsel nachweisbar sind.

Tabellen 9,10 und 11 zeigen in tabellarischer Übersicht, die von den einzelnen Autoren unter verschiedenen Untersuchungsbedingungen gefundenen Werte für Acetacetat, β -Hydroxybutyrat sowie der Gesamtketone, um einen besseren Vergleich mit den Werten der vorliegenden Untersuchung zu ermöglichen.

B. Diskussion der eigenen Ergebnisse.

1. Brauchbarkeit der Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung

- Beziehungen zum "wahren" Ketonkörpergehalt - Empfindlichkeit -
- Fehlermöglichkeiten - Wirtschaftlichkeit - praktische Anwendung -

Einige Autoren geben die niedrigste Konzentration von Acetacetat, bei der die Acetest-Methode noch anspricht, mit 10 mg% im Serum und 5 mg% im Harn an (19,20,21,29,35,65). Teilweise erst bei Konzentrationen von 50-80 mg% war das Testergebnis bei diesen Untersuchungen "stark" positiv und bei Werten um 20-30 mg% waren die Ergebnisse teils noch im "schwach" positiven, teils im "mittel" positiven Bereich. Nach der vorliegenden Untersuchung sprechen die Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung jedoch bereits bei wesentlich niedrigeren Ketonkörperkonzentrationen an. Acetacetatkonzentrationen von 5 mg% im Harn und 10 mg% im Serum sind deutlich pathologisch und werden nur bei stärkerer Ketoacidose oder beim Fasten über einen längeren Zeitraum erreicht. Bei Stoffwechselgesunden kommen solch hohe Konzentrationen von 5 oder 10 mg% Acetacetat im Serum oder Harn nicht vor. Sogar bei dekompensierten Diabetikern mit bereits bestehender Ketoacidose und Blutglucosewerten bis 500 mg% konnten weder im Blut noch im Harn bei unserer Untersuchung solch hohe Acetacetatkonzentrationen gefunden werden. Wenn also die Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung, wie in der Literatur angegeben, erst bei 10 mg% Acetacetat im Serum und 5 mg% Acetacetat im Harn ansprechen und bei 20 -30 mg% eine "schwach" und bei 80 mg% eine "stark" positive Reaktion anzeigen, so sind die Tests zur Ketonkörperbestimmung in Klinik und Praxis zur Selbstkontrolle des Diabetikers nicht geeignet, da solche Ketonkörperkonzentrationen nur bei schwerster Stoffwechselentgleisung beobachtet werden. Für den Arzt in Klinik und Praxis ist es wichtig zu wissen, mit welchem "wahren" Ketonkörpergehalt in Blut und Harn bei mehr oder weniger positivem Ergebnis der Schnelltests in etwa gerechnet werden muß. Bei den Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung können die entsprechenden "wahren" Konzentrationen für Acetacetat und β -Hydroxybutyrat, die enzymatisch bestimmt wurden, wie folgt festgelegt werden. Ein eindeutig negatives Ergebnis ergibt sich für die Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Blut im Bereich von $1,19 \pm 1,15$ mg% und bei der Ketostix-Methode bei $1,12 \pm 1,06$ mg% (Tab. 3, Abb. 1).

Die Tests werden im Serum bei einem Gesamtketonkörpergehalt von $5,58 \pm 3,52$ mg% im Blut bei der Acetest-Methode und bei einem Ketonkörpergehalt von $7,93 \pm 5,53$ mg% bei der Ketostix-Methode positiv. "Mäßig", bzw. "mittel" positive Tests sind bei Ketonkörperkonzentrationen von $12,62 \pm 4,26$ mg% bei der Acetest-Tablette und bei $7,93 \pm 5,53$ mg% bei dem Ketostix-Strip zu erwarten. Ein "stark" positives Ansprechen der Schnelltests konnte nur bei der Acetest-Tablette bei einem Gesamtketonkörpergehalt von $15,08 \pm 5,76$ mg% im Blut bei unserem Kollektiv nachgewiesen werden.

Im Harn war die Acetest-Methode bei einem Gesamtketonkörpergehalt von $1,00 \pm 0,56$ mg%, die Ketostix-Methode bei $1,06 \pm 0,70$ mg% "negativ". Die Tests wurden positiv bei einem Ketonkörpergehalt von $3,45 \pm 2,54$ mg% bei der Acetest-Methode und bei $4,01 \pm 2,77$ mg% bei der Ketostix-Methode. Ein "mittel", bzw. "mäßig" positives Ansprechen fanden wir beim Acetest bei $5,9 \pm 2,33$ mg% und beim

Ketostix bei $7,83 \pm 4,50$ mg%. Die Acetest-Tablette sprach positiv bei einem Gesamtketonkörpergehalt von $14,37 \pm 6,76$ mg% und der Ketostix-Teststreifen bei einer Konzentration von $17,1 \pm 6,25$ mg% an. Die einzelnen Mittelwerte und die entsprechenden Streubereiche für das Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Blut und Harn wurden bereits vorher ausführlich besprochen (siehe Beschreibung der Ergebnisse und Tab. 3 und 4).

Bei Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit den in der Literatur angegebenen Werten muß berücksichtigt werden, daß erstens zumeist die zu bestimmende Acetacetatmenge dem Harn oder Serum zugefügt wurde und dabei die verschiedensten Verfahren zur Herstellung der Testlösung benutzt wurden und zweitens die verschiedenen Autoren meist chemische Methoden zum Nachweis der Ketonkörper verwandt haben.

Infolge größerer Bereichsüberschneidungen in den einzelnen Testgruppen, (eingeteilt in "negativ", "schwach", "mittel" bzw. "mäßig" und "stark" positiv) mit dem dazugehörigen enzymatisch bestimmten Ketonkörpergehalt, erscheint es nach unserem Ermessen wenig sinnvoll neben einem "negativen" und "positiven" Ausfall der Schnellmethoden noch weitere Untergruppen im "positiven" Bereich zur Kennzeichnung der Stärke der Ketose anzugeben. Es kann nur sicher und einwandfrei zwischen "positiver" und "negativer" Reaktion unterschieden werden, ohne daß es mit dem enzymatisch bestimmten Ketonkörpergehalt zu Bereichsüberschneidungen kommt. Weiterhin hängt die Unter-

teilung im positiven Bereich von leicht zu beeinflussbaren Faktoren wie Licht, Bewertung durch den Untersucher, Harnfarbe und Länge der Einwirkzeit ab. Auch aus diesen Gründen ist eine Unterteilung im positiven Bereich weniger sinnvoll. Es ist weiterhin zu beachten, daß ein statistisch abzusichernder Unterschied nur bei einer "negativen" Reaktion der Schnelltests bei normalem Ketonkörperspiegel und einer "positiven" Reaktion bei pathologischen Ketonkörperkonzentrationen möglich ist.

Für den Diabetiker, der darauf angewiesen ist im Rahmen der Selbstkontrolle mit Schnellmethoden die Ketonkörper im Harn zu kontrollieren ist die Verwendung von Ketostix-Teststreifen wegen der Einfachheit und Sauberkeit sowie der besseren Ablesbarkeit des Testergebnisses der Acetest-Tablette vorzuziehen. Bei Reihenuntersuchungen oder der gleichzeitigen Testung mehrerer Harne in Labor und Klinik legt man am besten die Acetest-Tablette auf eine saugfähige Unterlage und betropft die Tabletten nacheinander mit den zu prüfenden Harnen. Die Tabletten und die dazugehörigen Harne müssen genau gekennzeichnet werden, damit Verwechslungen ausgeschlossen werden. Bei größeren Untersuchungsreihen ist jedoch die Ketostix-Methode besser zu verwenden, da der in den Harn getauchte Teststreifen sofort auf den Harnbehälter gelegt werden kann oder sich der Streifen infolge seiner guten Adhäsionskraft an den Rand des Urinbehälters legen läßt. Dieses Verfahren erspart eine eigene Kennzeichnung, wie sie bei Verwendung der Testtablette nötig ist. Die Teststreifen sind zudem hygienischer, da kein Harn aus den Behältern herausgebracht werden muß.

Vom Standpunkt der Wirtschaftlichkeit aus gesehen ist zu sagen, daß die Acetest-Tablette ca 40% billiger ist als die Ketostix-Teststreifen. Dies mag bei Großverbrauch in Klinik und Labor eine Rolle spielen, jedoch nicht bei Verwendung von Schnellmethoden durch Diabetiker zur Selbstkontrolle. Hier wiegt die einfache Anwendung und die bessere Ablesung den Nachteil des höheren Preises bei weitem auf.

Bei Auswertung der Testtabletten und Teststreifen ist darauf zu achten, daß die Ablesung des Ergebnisses bei immer gleichbleibenden Kunst- oder Tageslicht vorgenommen wird. Es treten erhebliche Unterschiede in der Farbqualität auf, je nachdem, bei welchem Licht die Ablesung der Tests vorgenommen wird. Wichtig ist, daß die

Auswertung von der gleichen farbtüchtigen Person vorgenommen wird. Es wurden in Vorversuchen positive Proben von verschiedenen Untersuchern in unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Blut- und Harn-glucosebestimmungen durch Farbvergleich mittels Teststreifen von anderen Untersuchern erhalten. Eindeutig wurde nur ein "negatives" und ein "positives" Ergebnis unterschieden. Problematisch ist auch die Ablesung der Schnellteste bei hochkonzentrierten Harnen. Es treten erhebliche Schwierigkeiten bei der Differenzierung vom "negativen" zum "schwach" positiven und zum "mittel" positiven Testausfall auf. In einigen Fällen konnte keine Aussage gemacht werden, zu welcher Gruppe der getestete Harn gehört. Problematisch ist die Testung von Serum mit der Acetest-Tablette. Bringt man einen Tropfen Serum auf die Oberfläche der Tablette, so dringt nur sehr wenig Serum in die Tablette ein. Der Tropfen erstarrt in kurzer Zeit und bildet eine zähe und undurchsichtige Haut (21). Die Ablesung des Ergebnisses wird dadurch unmöglich gemacht. Diese Schwierigkeiten umgeht man einigermaßen, wenn man nach Einwirkung des Serums auf die Tablette mittels eines Filterpapiers die nicht eingesaugten Reste abtupft. Eine vollständige Durchtränkung der Tablette mit Serum wird in keinem Falle erreicht. In welchem Maße dabei das Ergebnis verändert wird, muß dahingestellt bleiben. Diese Schwierigkeit könnte sicherlich durch entsprechende Verdünnung des Serums umgangen werden. Es treten dann jedoch neue Probleme hinsichtlich des Vergleichs mit der Farbskala und der dort getroffenen Einteilung auf. Bei Anwendung der Ketostix-Methode traten diese Nachteile nicht auf.

Es konnte gezeigt werden, daß die Acetest-Methode im Serum und Harn empfindlicher reagiert als die Ketostix-Methode (19,49,51). Dabei zeigt sich, daß die Tests bei niedrigeren Ketonkörperkonzentrationen (0-2,5 mg% im Serum und 0-5 mg% im Harn) in etwa gleich ansprechen, jedoch bei höheren Konzentrationen die Acetest-Methode empfindlicher reagiert. Es ist zu beachten, daß bei einem Gesamtkollektiv von 150 Messungen die Acetest-Methode bei 10 und die Ketostix - Methode bei 6 Messungen bei eindeutig erhöhtem enzymatisch bestimmten Ketonkörperspiegel eine negative Reaktion ergab. Diese Ergebnisse werden auch von anderen Autoren bestätigt.

Fraser et al (19) fanden in ihrer Untersuchung, daß die Acetest- und Ketostix-Reaktion gleich empfindlich war. Bei insgesamt 678 Proben

ergab sich folgende Verteilung:

	Ketostix	Acetest
"negativ"	527	525
"schwach" +	83	78
"mittel" +	33	37
"stark" +	35	38

In Übereinstimmung mit der vorliegenden Untersuchung zeigt sich auch hier im niedrigen Ketonkörperbereich ("negativ" und "schwach" positiv), daß beide Methoden gleich empfindlich sind. Bei höheren Ketonkörperkonzentrationen ist die Acetest-Methode empfindlicher ("mittel" und "stark" positiv). Riekers et al. (51) testeten 100 Harne von Ketotikern mit der Acetest- und Ketostix-Reaktion und fanden, daß sämtliche Harne mit der Acetest-Tablette einen positiven Testausfall, mit dem Ketostix-Teststreifen jedoch nur 92 Proben eine positive Reaktion ergaben. Ein Vergleich der Acetest-Tablette mit dem Ketostix-Teststreifen ergab, daß die Ketostix-Methode in 8 Fällen im Gegensatz zum Acetest keine Ketonkörper anzeigte. Auch Free et al. (21) wiesen in ihrer Untersuchung nach, daß bei 5553 Proben eine größere Empfindlichkeit der Acetest-Tablette vorliegt. Bei einer Konzentration von 5 mg% Acetacstat reagierten 87 % der Proben mit der Acetest-Tablette und 71 % der Proben mit der Ketostix-Methode "schwach" positiv.

2. Beziehung von Acetacetat, β -Hydroxybutyrat sowie der Gesamtketonkörper in Blut und Harn.

Bei einem Kollektiv von 15 stoffwechselgesunden Normalpersonen und etwa 40 Diabetikern wurden in Blut und Harn mit enzymatischen Methoden Acetacetat und β -Hydroxybutyrat bestimmt. Bei den Diabetikern wurde die Einteilung in eine der drei Gruppen vom Ansprechen der Schnellmethoden abhängig gemacht. Bei den Diabetikern, bei denen beide Schnellmethoden in Blut und Harn negativ ausfallen, kann trotz höherer Werte des Acetacetats und β -Hydroxybutyrats keine signifikante Erhöhung gegenüber dem Normalkollektiv festgestellt werden. Bei Gruppe 1 und Gruppe 2 der Diabetiker fand sich bei insgesamt 3 Messungen über einem Zeitraum von 2 Stunden eine nur geringe, nicht signifikante Erhöhung des Ketonkörperspiegels. Erst bei Gruppe 3 der Diabetiker, bei denen die Schnellmethoden sowohl im Harn als auch im Serum positiv sind, zeigt sich ein signifikantes Ansteigen ($p < 0,02$) des Acetacetatspiegels. (Abb. 4)

Bei einem Vergleich der Harnwerte des Acetacetats der Normalpersonen mit den Werten der Diabetiker zeigt sich ein geringer, jedoch nicht signifikanter Unterschied. Erst in Gruppe 2 der Diabetiker sind die Werte signifikant ($p < 0,001$) gegenüber den Vorgruppen verschieden, um dann bei Gruppe 3 der Diabetiker auf einen Wert von 3,02 mg% anzusteigen. (Tab. 2)

Beim β -Hydroxybutyrat zeigt sich ein anderer Verlauf. Bei Gruppe 1 der Diabetiker kann wie beim Acetacetat keine signifikante Erhöhung des β -Hydroxybutyratgehaltes im Blut im Vergleich zu den Normalpersonen festgestellt werden. Bei Gruppe 2 der Diabetiker wird ein stärkeres, jedoch nicht signifikantes Ansteigen der β -Hydroxybutyratkonzentrationen deutlich. Erst bei Gruppe 3 der Diabetiker zeigt sich ein sprunghaftes und signifikantes Ansteigen ($p < 0,001$ und $< 0,005$) der β -Hydroxybutyratkonzentrationen.

Im Harn sind bereits bei den Normalpersonen der Wert des β -Hydroxybutyrats vom Wert bei den Diabetikern der Gruppe 1 signifikant verschieden ($p < 0,05$). Der Anstieg setzte sich auch bei Gruppe 2 fort ($p < 0,02$), um bei Gruppe 3 auf einen Wert von 7,68 mg% plötzlich und sprunghaft anzusteigen. Dieser im Gegensatz zum Acetacetat schnelle Anstieg des β -Hydroxybutyrats wird von Passmore (47) und Guest (Diskussion 13) mit dem Bestehen einer Nierenschwelle für das β -Hydroxybutyrat gedeutet.

Die Gesamtketonkörper im Harn unterscheiden sich in allen Gruppen signifikant (Abb. 4, Tab. 2). Obwohl der Ketonkörpergehalt im Blut bei den Normalpersonen und bei den einzelnen Gruppen der Diabetiker bereits einen gewissen leichten Anstieg zeigt, kann nur in Gruppe 2 der Diabetiker (Ketonkörperbestimmung in Serum und Harn positiv) ein signifikanter Unterschied gegenüber den Vorgruppen festgestellt werden.

Bei einem Vergleich der Meßwerte der vorliegenden Untersuchung mit den in der Literatur angegebenen Werten ist zu beachten, daß die Ketonkörperbestimmung meist mit chemischen Methoden durchgeführt wurde und daher nicht mit der enzymatischen Bestimmungsmethode zu vergleichen ist. Peden (48), die ihre Untersuchung bei 10 - 15 jährigen Kindern durchführte, fand bei 47 Personen einen Wert für das Acetacetat von 0,3 mg% (0-2,8 mg%) im Blut und für das β -Hydroxybutyrat von 0,9 mg% (0-2,5 mg%). Auch die Werte von Eggstein et al (16) sowie Mellanby und Williamson (76) korrelieren gut mit den Werten der vorliegenden Untersuchung. Stark et al (56), Johnson et al (30) und Lyon und Bloom (38) bestimmten die Ketonkörperkonzentrationen bei hungernden Probanden und fanden wesentlich erhöhte Werte. Die Ketonkörper wurden von uns postprandial über einen Zeitraum von 2 Stunden bestimmt, um die physiologische Konzentration nach Nahrungsaufnahme und das Verhalten des Ketonspiegels über 2 Stunden zu erfassen. Es ist von geringerer Bedeutung für die Praxis, die Ketonkörperkonzentrationen beim nüchternen Patienten zu messen, um dann daraus Folgerungen für die Stoffwechsellaage dieses Patienten zu ziehen. Auch bei der Bestimmung der Blutglucose geht man immer mehr vom "Nüchternblutzucker", einem unphysiologischen und wenig aussagekräftigen Parameter ab. Ähnlich wie die postprandial bestimmte Blutglucose sollten auch die Ketonkörper im Blut bei bestimmten klinischen Fragestellungen nur postprandial bestimmt werden.

Bei Vergleich der Werte des Acetacetats in Blut und Harn zeigt sich ein in etwa linearer Anstieg, obwohl der Gehalt an Acetacetat im Harn im Vergleich zum Blut höher liegt (Tab. 2). Anders hingegen verhält sich das β -Hydroxybutyrat. Es besteht auch hier ein annähernd linearer Anstieg der Werte bis zu der Gruppe 2 der Diabetiker. Bei Gruppe 3 der Diabetiker hingegen steigt der Spiegel des β -Hydroxybutyrat sprunghaft an. Ein entsprechendes Verhalten findet sich bei den "Gesamtketonen" (Tab. 2, Abb. 4).

Passmore (47) und Johnson (30) erklärten das im Gegensatz zum Acetacetat veränderte Verhalten des β -Hydroxybutyrats mit dem Bestehen einer Nierenschwelle für das β -Hydroxybutyrat. Bei leichter Ketose erscheint nur sehr wenig im Harn, bei zunehmender Ketose erhöht sich die Konzentration des im Harn ausgeschiedenen β -Hydroxybutyrats. Das β -Hydroxybutyrat wird daher bei schwerer Ketoacidose zur Hauptkomponente, während das Acetacetat zurücktritt. Bei leichter Ketose halten sich beide Ketonkörper Acetacetat und β -Hydroxybutyrat die Waage. So wurde von uns in Übereinstimmung mit Stephens (58) je nach Stärke der Ketoacidose eine Verschiebung der Relation zu Gunsten von β -Hydroxybutyrat gefunden. Stephens stellte einen Quotienten 0,6:1 bis 4,8:1 fest. In der vorliegenden Untersuchung schwanken die Werte von 1:1 bei Normalpersonen bis zu 4:1 bei den Diabetikern mit stärkerer Ketoacidose. Im Harn war die Relation bei Normalpersonen 0,51:1 und bei den Diabetikern 2,5:1. Daß die Nitroprussidnatriumreaktion, auf der die Schnellmethoden zur Bestimmung der Ketonkörper basiert, zur Bestimmung schwerer Ketoacidosen nur wenig geeignet sei, vertritt Passmore (47) in seiner Untersuchung. Er führt aus, daß mit der Nitroprussidnatriumreaktion nur Acetacetat nachgewiesen werde, jedoch nicht β -Hydroxybutyrat. Das sprunghafte und plötzliche Ansteigen des β -Hydroxybutyrat als zuverlässiger Parameter für die stärkere Ketoacidose könne nicht erfaßt werden. Der Autor (47) zeigt in einer graphischen Darstellung, daß das Konzentrationsverhältnis zwischen Acetacetat in Harn und Blut eine Gerade ergibt, das Verhältnis von β -Hydroxybutyrat in Harn und Serum dagegen eine konvex gekrümmte Kurve. Diese vorstehenden Tatsachen können durch die vorliegende Untersuchung bestätigt werden, obwohl die Ergebnisse für eine exponentiell verstärkte Bildung von β -Hydroxybutyrat bei stärkerer Ketose, nicht aber für das Bestehen einer Nierenschwelle sprechen. Ein weiterer Grund für das plötzliche Ansteigen des β -Hydroxybutyrats in Blut und Harn besteht vielleicht darin, daß bei stärkerer Ketoacidose mit Anfall großer Mengen von Ketosäuren die entgiftenden Funktionen im Organismus aktiviert werden (47). Dabei wird Acetessigsäure im Gewebe enzymatisch zu β -Hydroxybuttersäure reduziert. Dies muß als entgiftender Vorgang verstanden werden, da die β -Hydroxybuttersäure eine schwächere Säure als Acetessigsäure ist. Warum dieser Vorgang erst bei stärkerer Ketoacidose in Gang

kommt, muß dahingestellt bleiben. Möglicherweise spielt die Aktivierung eines spezifischen Enzymsystems eine Rolle. Zu beachten ist weiterhin, daß eine Ketonurie nicht als absoluter Index für die Schwere einer Ketose herangezogen werden darf, da der Ketonspiegel im Harn von der renalen Funktion, von der Wasserzufuhr und der Wasserabgabe abhängt (12). Nach Guest (13) ist diese Tatsache insbesondere bei Diabetikern, die im fortgeschrittenen Krankheitsstadium häufig an renalen Funktionsstörungen leiden, bei Heranziehung der Harnkonzentration als Parameter für die Ketose zu denken. Im Zweifelsfalle muß eine der gängigen Nierenfunktionsprüfungen bei der Beurteilung der Ketonurie als Parameter für die Stärke einer Ketoacidose herangezogen werden.

3. Beziehung der "wahren" Ketonkörperkonzentrationen sowie der Schnelltests zur Ketonkörperbestimmung zu anderen Stoffwechselparametern.

Neben der enzymatischen Bestimmung der Ketonkörper in Blut und Harn wurde in einer Verlaufskontrolle über 2 Stunden in stündlichen Abständen in Blut die Glucose, die freien Fettsäuren und das Standardbikarbonat bestimmt. Die Einteilung der Diabetiker erfolgte wiederum nach dem Ansprechen der beiden Schnelltests zur Ketonkörperbestimmung. Diesen 3 Gruppen der Diabetiker wurde eine Gruppe mit ca 15 stoffwechselgesunden Normalpersonen gegenübergestellt. Eine signifikante Erhöhung des Blutglucosespiegels ($p < 0,05$), im Vergleich zu stoffwechselgesunden zeigte sich bereits bei Gruppe der Diabetiker, bei noch negativen Schnelltests in Serum und Harn. In jedem Fall ist ein Abfall des Blutglucosespiegels von 0 über 60 und 120 min zu sehen, der damit erklärt werden kann, daß die Blutentnahmen 1 Stunde postprandial begannen und somit bei Testbeginn der höchste Blutzuckerspiegel zu erwarten war. Bei Diabetikern mit eindeutig pathologischen Blutglucosespiegeln von etwa 215 mg% ist noch kein Ansprechen der Ketonkörperschnelltests im Serum zu erwarten. Bei höheren Glucosekonzentrationen um 250 mg% können im Harn Ketonkörper mit Schnelltests nachgewiesen werden. Im Serum tritt bei Blutglucosekonzentrationen von durchschnittlich 330 mg% ein positiver Schnelltest auf. Dieser nur für diese untersuchten Patientenkollektive gültige Zusammenhang zwischen

Blutglucosespiegeln und Ergebnis der Schnelltests zur Ketonkörperbestimmung läßt nicht auf eine Korrelation zwischen beiden Parametern schließen. Ein Vergleich der enzymatisch gemessenen Ketonkörperkonzentrationen und des Blutglucosespiegels zeigt, daß kein enger Zusammenhang zwischen beiden Parametern besteht (Tab.5). Dies entspricht auch dem Ergebnis anderer Autoren (66,67,71). Die Korrelationskoeffizienten bewegen sich zwischen Werten von 0,01 und 0,37. Die freien Fettsäuren steigen nur bei Gruppe 3 der Diabetiker, also bereits bei deutlicher Ketose, gegenüber den anderen Gruppen signifikant an ($p < 0,001$) (Tab.1, Abb.3). Die Verlaufskontrolle über 2 Stunden zeigt keine wesentlichen Schwankungen der Mittelwerte.

Das Standardbikarbonat war ebenfalls erst bei Gruppe 3 der Diabetiker signifikant erniedrigt ($p < 0,02$) (Tab.1, Abb.3). Somit sind bei den Diabetikern der Gruppe 1 und 2 mit noch kompensiertem Stoffwechsel (keine Acidose, keine gesteigerte Lipolyse) gegenüber dem Normalkollektiv eine signifikante Erhöhung der Blutglucosekonzentration, eine Erhöhung der Gesamtketonkörperkonzentration in Blut und Harn, die jedoch nur im Harn statistisch abgesichert werden konnte, zu beobachten; Dabei ist zu beachten, daß bei diesen Patienten bereits die Schnelltests im Harn positiv ausfallen können. Im Serum zeigt sich bei diesen Gruppen im allgemeinen mit den Schnelltests noch keine positive Reaktion. Bei beginnender Dekompensation des Stoffwechsels (Gruppe 3 der Diabetiker- signifikante Erhöhung der freien Fettsäuren, Erniedrigung des Standardbikarbonats) kommt es zu einem plötzlichen und signifikanten Ansteigen ($p < 0,001 / < 0,01 / < 0,005$) der Ketonkörperkonzentrationen im Blut. Im Harn sind auch hier die Werte gegenüber der Vorgruppe der Diabetiker signifikant ($p < 0,005$) erhöht. Bei dieser Gruppe werden jetzt erstmals die Tests im Serum positiv. Somit ergibt nur ein positiver Test im Serum, nicht aber im Harn, einen guten Hinweis auf eine Stoffwechselentgleisung. Der positive Test im Harn erfaßt zwar in der Regel pathologisch erhöhte Ketonkörperpiegel, die Tests geben aber keine Hinweis auf eine Stoffwechselentgleisung. Außerdem können bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion im Harn pathologisch erhöhte Ketonkörperkonzentrationen auftreten, die mit den Schnellmethoden nachgewiesen werden, ohne daß eine Acidose oder Ketoacidose vorliegt (64,12).

Weiterhin wurde mit Hilfe der Korrelationsrechnung versucht, auch zwischen den Ketonkörperkonzentrationen und den anderen Stoffwechselfparametern einen Zusammenhang zu finden.

Keine enge Korrelation besteht bei einem Vergleich des Standardbikarbonates mit den Ketonkörpern. Es ergeben sich bei den Diabetikern mit stärkerer Ketoacidose Korrelationskoeffizienten von -0,5 bis -0,7. Zu beachten ist, daß bei Normalpersonen und gut eingestellten Diabetikern die Korrelationskoeffizienten wesentlich unter den obigen Werten liegen (Tab. 5). Watkins et al (68) finden in ihrer Untersuchung ebenfalls einen negativen Korrelationskoeffizienten von -0,854 bei einem Vergleich des Blut-pH mit dem β -Hydroxybutyrat.

Außerdem wurden die Ketonkörper (Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) untereinander in Beziehung gesetzt. Dabei ergibt sich bei unserem Gesamtkollektiv von 177 gepaarten Werten im Blut ein Korrelationskoeffizient von 0,749. Die entsprechende Korrelation im Harn fiel mit einem Koeffizienten von 0,633 schlechter aus. Da das Verhältnis Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im Harn und Blut nicht konstant ist, ergibt die Korrelationsrechnung beim Gesamtkollektiv und bei den Diabetikern keine gute Übereinstimmung. Einige Autoren beschäftigen sich mit diesem Verhältnis (43, 58, 60, 65, 66) . In Abhängigkeit von der Acidose gibt Stephens (58) einen Quotienten β -Hob:AcAc von 0,6:1 bis 4,8:1 an. Während der Behandlung der Acidose sei gewöhnlich ein Anstieg des Acetacetats über einen längeren Zeitraum zu beobachten. Dagegen fallen die Werte der Blutglucose und des β -Hydroxybutyrats ab. Strandgaard (60) bestätigt diese Ergebnisse und beschreibt einen Abfall des β -Hydroxybutyrats im Blut bei Behandlung einer Ketoacidose, der schneller einsetzt als der Abfall des Acetacetats. Aus diesem Grund verändert sich das Verhältnis Acetacetat: β -Hydroxybutyrat ständig. Auch Menahan (44) findet sich ständig verändernde Relationen zwischen 1 und 2,5 bei Vergleich von β -Hob:Ac im Blut. Watkins und Fitzgerald (66) geben einen Quotienten von $2,73 \pm 0,73$ an. Diese Ergebnisse stehen in gutem Einklang mit der vorliegenden Untersuchung. Bei Vergleich des β -Hydroxybutyrats mit dem Acetacetat wurde bei Normalpersonen ein Verhältnis von 1:1 und bei Diabetikern ein Quotient bis 1:4, je nach Stärke der Acidose, gefunden. Im Harn war das Verhältnis Acetacetat: β -Hydroxybutyrat bei Normalpersonen 1:0,5 und bei den Diabetikern

1:2,5.

Eine enge Korrelation wurde bei Vergleich der Werte des β -Hydroxybutyrats im Blut zu den Werten im Harn gefunden ($r=0,935$). Die analoge Korrelation des Acetacetats im Blut und Harn ergab mit einem Koeffizienten von 0,751 bei 55 Wertepaaren eine deutlich schwächere Übereinstimmung.

Der praktisch wichtige Vergleich der Gesamtketone (Summe von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) in Blut und Harn zeigt mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,917 eine gute Übereinstimmung (Tab.6).

In der Literatur besteht in der Frage einer positiven, linearen Korrelation zwischen Ketonkörpern und freien Fettsäuren keine eindeutige Meinung. Einige Autoren verneinen diesen Zusammenhang (18,47,67,71,72), andere Autoren sprechen sich für eine lineare oder exponentielle Korrelation aus (5,27,31,32,59,67,72). Zusammenhänge zwischen beiden Parametern wurden bei hungernden Patienten (18,47,71), nach körperlicher Belastung (5,32) und bei der Perfusion von Rattenlebern gefunden (32).

Bei unserem Kollektiv von 168 gepaarten Werten erscheint bei den Gesamtketonen, wie aus Abbildung 6 ersichtlich, ein exponentieller Zusammenhang am wahrscheinlichsten. Mit ansteigenden Werten der freien Fettsäuren steigen die Ketonkörperkonzentrationen wesentlich stärker an. Bei maximal erhöhten Ketonkörperspiegeln kommt es zu keinem Anstieg der freien Fettsäuren über 1,2 mval/l (Abb.6). Watkins (67) berichtet in seiner Veröffentlichung, daß er eine gute Korrelation zwischen Ketonen und den freien Fettsäuren erwartet hätte, da die freien Fettsäuren das wichtigste Substrat der Leber bei der Ketonkörperproduktion sind. Eine verstärkte Ketogenese ist daher abhängig von der zunehmenden Mobilisation der freien Fettsäuren aus peripheren Fettdepots. Seine Untersuchungen am Menschen ergaben jedoch, daß kein linearer Zusammenhang zwischen Ketonkörpern und den freien Fettsäuren besteht. Während einer kurzen Hungerperiode findet Werk (71) einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Ketonkörpern und freien Fettsäuren. Bei Ketotikern waren auch die freien Fettsäuren einigemal niedriger als bei anderen Diabetikern mit geringerer Ketonämie. Der Anstieg oder Abfall der freien Fettsäuren beeinflusst zwar den Ketonspiegel, die momentanen Werte sind dabei jedoch nicht korreliert. Als Erklärung gibt Werk (71) an, daß die Ketonkörperproduktion in der Leber zwar durch einen Anstieg der freien Fettsäuren gesteigert werden kann, daß aber bei einer Erhöhung der Umsatzrate der freien

Fettsäuren in der Leber zuerst die Ketonkörperbildung gesteigert wird und sich dann erst später die Fettsäurespiegel im Blut erhöhen. Auch während einer Fastenperiode besteht beim Menschen keine Korrelation zwischen beiden Parametern (18). Nach Insulingabe im Hungerzustand fallen die Werte der freien Fettsäuren ab, die Acetatkonzentrationen verändern sich nicht. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann gesagt werden, daß bis zu einem Spiegel der Fettsäuren von 0,8 mval/l eine Ketonkörperkonzentration von 4,0 mg% nicht überschritten wird. Dabei liegt der größte Teil der Meßwerte unter einem Ketonspiegel von 2 mg%. Erst über einem Gehalt der freien Fettsäuren von 0,8 mval/l kommt es zu einem raschen und deutlichen Anstieg der Ketonkörper im Blut (Abb. 6). Die Ergebnisse, die unter unseren Versuchsbedingungen weitgehend einem normalen Tagesablauf entsprechen, unterstützen die Resultate der Autoren, die einen exponentiellen Zusammenhang zwischen dem Spiegel der freien Fettsäuren und dem Ketonkörper Spiegel gefunden haben. Eine Aussage über den Mechanismus der Bildung der freien Fettsäuren und der Ketonkörpersynthese kann aus diesen Untersuchungen nicht erfolgen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die heute zur Verfügung stehenden Bestimmungsmethoden der Ketonkörper in Blut und Harn sind laboratoriumstechnisch sehr aufwendig und mit relativ hohen Kosten verbunden. In Klinik und Praxis ist jedoch eine regelmäßige Kontrolle des Harns auf Ketonkörper zu einer Routinemethode geworden.

Der Gesamtketonkörpergehalt in Blut und Harn besteht ungefähr zu $\frac{2}{3}$ aus β -Hydroxybutyrat und zu $\frac{1}{3}$ aus Acetacetat und Aceton. Aceton wird in Körperflüssigkeiten und Geweben praktisch nicht nachgewiesen, wahrscheinlich entsteht ein kleiner, zu vernachlässigender Teil durch Dekarboxylierung von Acetacetat. In der Literatur wird je nach Autor ein Ketonkörperspiegel des Harns von 0,6 - 25 mg% angegeben.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, durch Vergleich mit enzymatischen Methoden die Brauchbarkeit der verwendeten Schnellmethoden zur Ketonkörperbestimmung in Serum und Harn bei Gesunden und Diabetikern zu untersuchen.

Bei insgesamt 48 stationären, teils mit Insulin, teils mit oralen Antidiabetika behandelten Patienten wurden 3 Blutproben, beginnend 1 Stunde postprandial in stündlichen Abständen über einen Zeitraum von 2 Stunden entnommen. Außerdem wurde der Sammelharn nach 2 Stunden untersucht. Als Vergleich dienten 15 stoffwechslegesunde Normalpersonen. In jeder Blutprobe sowie in der jeweiligen Harnprobe erfolgte eine sofortige Bestimmung der Ketonkörper mit Schnelltests (Acetest und Ketostix). Die hierbei erhaltenen Resultate wurden mit dem enzymatisch gemessenen Ketonkörpergehalt (β -Hydroxybutyrat und Acetacetat) verglichen. Außerdem wurden Bestimmungen der Blutglucose, der freien Fettsäuren, des Blut-pH und des Standardbikarbonats durchgeführt.

Ein Vergleich der enzymatisch gemessenen Ketonkörperkonzentrationen im Harn mit den Ergebnissen der Schnelltests zeigt den ungefähren Ketonkörpergehalt an, mit dem bei den einzelnen Farbqualitäten der Tests gerechnet werden muß. Es zeigt sich, daß beide auf der Nitroprussidnatriumreaktion beruhende, in der technischen Ausführung unterschiedliche Schnellmethoden zu etwa gleichen Ergebnissen hinsichtlich des "wahren" Ketonkörpergehalts führen. Bei "negativem" Ergebnis der Acetest- bzw. der Ketostix-Methode im Harn ist mit einem Gesamtketonkörperspiegel bei Angabe der 2s-Grenzen bis zu 2 mg%, bei sogenannten "mittel" positivem Ansprechen ist mit einem

durchschnittlichen Ketonkörperwert von 4-10 mg% zu rechnen. Höhere Ketonkörperpiegel ergeben mit beiden Tests ein "stark" positives Ergebnis.

Zwischen den niedrigen Ketonkörperkonzentrationen, die einen noch "negativen" Ausfall der Schnelltests ergaben und den höheren Konzentrationen, die ein "schwach" oder "stark" positives Ergebnis der Schnelltests bewirkten, bestand ein statistisch signifikanter Unterschied. Hingegen war eine statistische Absicherung der Unterschiede bei den Ketonkörperkonzentrationen, die einen "positiven" Ausfall bewirkten nicht möglich.

Andere Verhältnisse zeigten sich, wenn man die Ergebnisse der Schnelltests im Serum mit den enzymatisch gewonnenen Werten vergleicht. Hierbei ergibt der "negative" Testausfall der Acetest- und Ketostix-Methode wiederum eine gute Übereinstimmung, wobei bei Auswertung von 149 Proben ein Gesamtketonkörpergehalt von durchschnittlich 1,2 mg% im Blut resultierte. Im "schwach" positiven Bereich ist bei Betrachtung des 2s-Bereiches mit Ketonkörperkonzentrationen bei der Acetest-Methode von etwa 2-10 mg% und bei der Ketostix-Methode von etwa 2-15 mg% zu rechnen. Bei "mittel" und "stark" positivem Testausfall treten bei beiden Methoden höhere Ketonkörperkonzentrationen auf. Deutlich ist wieder die Überschneidung der einzelnen Testbereiche. Sämtliche positive Ergebnisse unterscheiden sich signifikant gegenüber dem negativen Ergebnis der Schnelltests. Im positiven Bereich besteht eine größere Empfindlichkeit der Acetest-Methode gegenüber der Ketostix-Methode.

Die Verlaufskontrolle der Blutketone über 2 Stunden ergibt bei Stoffwechselgesunden und bei gut kompensierter diabetischer Stoffwechsellaage keine wesentlichen Konzentrationsänderungen. Die Ketonkörperausscheidung im Sammelharn entspricht in etwa der Ketonkörperkonzentration im Blut. Bei positivem Ergebnis eines Schnelltests im Harn finden sich erhöhte Ketonkörperpiegel im Blut, die sich jedoch untereinander und gegenüber den Ketonkörperpiegeln in Blut und Harn nicht signifikant unterscheiden. Es fand sich eine erhöhte Ketonkörperausscheidung im Harn, die sich gegenüber der Vorgruppe signifikant unterschied und die sich aus einem erhöhten Anteil von β -Hydroxybutyrat und Acetacetat zusammensetzt. Erst wenn die Schnelltests in Serum und Harn positiv werden, ergeben sich für den enzymatisch gemessenen Gesamtketonkörpergehalt im Harn deutlich erhöhte Werte. Auch die Ketonkörper im Blut sind jetzt gegenüber der Vorgruppe signifikant erhöht. Erst bei einem positiven Schnelltest 1.

Serum und Harn wurde auch ein signifikantes Ansteigen des Blut-glucosespiegels und der freien Fettsäuren, sowie eine signifikante Erniedrigung des Standardbikarbonats beobachtet. Wenn im Harn erhöhte Ketonkörper Spiegel auftreten, zeigen diese Parameter im allgemeinen noch keine signifikanten Veränderungen. Erst bei Dekompensation des Stoffwechsels mit statistisch abgesicherter Erhöhung der freien Fettsäuren und einer Erniedrigung des Standardbikarbonats, steigen die Ketonkörperkonzentrationen im Blut und Harn signifikant an. Erstmals sind jetzt die Blutketonwerte signifikant gegenüber der Vorgruppe erhöht. Ein positiver Schnelltest im Blut, nicht aber im Harn gibt somit einen guten Hinweis auf eine beginnende Stoffwechselentgleisung.

Die Gesamtketonkörper (Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) sind im Blut und Harn eng korreliert (Korrelationskoeffizient $r = 0,917$). Zwischen den Blutketonkörpern und dem Spiegel der freien Fettsäuren besteht im postprandialen Zustand ein exponentieller Zusammenhang. Bei Werten der freien Fettsäuren von $0,8 - 1,2 \text{ mval/l}$ steigen die vorher unter $4 \text{ mg\%}$ liegenden Werte der Gesamtketonkörper steil an.

Hinsichtlich der praktischen Verwendung der beiden Schnellmethoden ist zu sagen, daß bei der Selbstkontrolle der Diabetiker die Ketostix-Teststreifen wegen der Einfachheit in der Anwendung, sowie der besseren Ablesbarkeit und Beurteilung der Testergebnisse der Acetest-Methode vorzuziehen sind. Mit beiden Methoden wird nur Acetacetat und nicht β -Hydroxybutyrat nachgewiesen. Bei der Acetest-Methode bestehen Schwierigkeiten mit der Testung des Serums, das ohne in die Tabletten einzudringen auf der Oberfläche der Tablette einen undurchsichtigen, zähen Film bilden kann. Damit wird die Ablesung erschwert. Außerdem ergaben sich Schwierigkeiten bei der Testung hochkonzentrierter Harns hinsichtlich der Einteilung in einzelne Farbqualitäten der Schnelltests. Unterschiedliche Lichtverhältnisse können die Farbqualitäten verändern und somit die Einordnung in die Untersuchungsgruppen erschweren.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Andersen O., Engel K.:
A new acid base nomogramm
Scand.J.clin.Lab.invest. 12:177/1960
2. Andersen O., Engel K., Jørgensen K., Astrup P.:
A micro-method for determination of pH, carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in capillary blood.
Scand.J.clin.Lab.invest. 12:172/1960
3. Astrup P., Jørgensen K.:
Standard bicarbonate, its clinical significance and a new method for its determination .
Scand.J.clin.Lab.invest. 9:122/1957
4. Astrup P.:
Apparatur für die anaerobe Bestimmung des pH des Blutes bei 38°C.
Scand.J.clin.Lab.invest. 8:33/1956
5. Azar G., Bloom W.L.:
Similarities of carbohydrate deficiency.
Arch.of intern.med. 112:338/1963
6. Beigelmann P.M., Martin H.E., Miller L.V., Grant W.J.:
Severe diabetic ketoacidosis.
Jama 210:1082/1969
7. Bergmeyer H.U., Berndt E.:
Glucosebestimmung: Bestimmung mit Glucoseoxydase und Peroxydase.
Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie 123/1962
8. Bergmeyer H.U., Berndt E.:
Enzymatische Bestimmung von Ketonkörpern.
Enzymol.biol.clin(Basel) 5:65/1965
9. Boehringer Mannheim:
Enzymatische Bestimmung von Acetacetat und B-Hydroxybutyrat im Blut.
Vorläufige Arbeitsvorschrift April 1968

10. Diem K., Lentner C.:
Documenta Geigy - wissenschaftliche Tabellen.
7. Auflage 146-199
11. Dirr K., Enzinger E.:
Über neue Rapidverfahren zum Nachweis von
Zucker und Aceton.
Mü.Med.Wchschrft. 39:1128/1954
12. Doudoroff M., Merrick J.M., Contopoulou R.:
Bacterial D(-)-B-hydroxybutyric dehydrogenase.
Fed.Proc. 20:272/1961
13. Duncan G., Gill R.:
Clinical value of a simple test for plasma
acetone in diabetic coma.
Diabetes 2:353/1953
14. Duncombe W.G.:
The colorimetric determination of nonesterified
fatty acids in plasma.
clin.chim.acta 9:122/1964
15. Duncombe W.G.:
The colorimetric micro-determination of long-
chain fatty acids.
Biochem.J. 88:7/1963
16. Eggstein M., Knodel W., Krämer H., Baetzner P.
Substrat- und Metabolitverschiebungen im Blut nach
Adrenalin und B-Rezeptorenblockern.
Klin.Wchschrft. 45:943/1967
17. Förster H., Mehnert H., Stuhlfauth K.:
Laboratoriumsmethoden zur Erkennung und Kontrolle
des Diabetes mellitus.
Mü.med.Wschrft. 107:14441/1965
18. Foster D.:
Studies on the ketosis of fasting.
J.clin.invest. 46:1283/1967
19. Fraser J., Fetter M., Mast R.L., Free A.H.:
Studies with a simplified nitroprussid test for
ketone bodies in urine, plasma and milk.
clin.chim.acta 11:342/1965

20. Free A.H., Free H.:

Nature of nitroprussid reaktive material in
urine in ketosis.

Amer.J.clin.Path. 30:7/1958

21. Free H., Smeby R., Free A.H.:

A comparative studie of qualitative tests for
ketones in urine and serum.

clin.chem. 4:323/1958

22. Froesch E.R., Renold A.E.:

Specific determination of blood glucose.

Diabetes 5:1/1956

23. Garland P.B., Randle P.J.:

Control of pyruvate dehydrogenase in the perfused
rat heart by the intracellulär concentration of
acetyl-coenzym A.

Biochem.J. 91:6c/1964

24. Gibbard S., Watkins P.J.:

A micro-method for the enzymatic determination
of D-(-)- β -hydroxybutyrate and acetoacetate.

Clin.chim.acta. 19:511/1968

25. Gerhardt O.:

Über Diabetes mellitus und Aceton.

Wien.med. Presse 6:673/1865

26. Greenberg L.A., Lester D.H.:

A micro-method for the determination of acetone
and acetone bodies.

J.biol.chem. 154:177/1944

27. Hanson P.G., Johnson R.:

Correlation between ketone bodies and free fatty
acid concentration in plasma during early
starvation in man.

Metabolism 14:1037/1965

28. Hugget A., Nixon D.A.:

Enzymatic determination of blood glucose.

Biochem.J. 66:12/1957

29. Hüttig E.:

Labordiagnostik mit Schnellreagenzien.

Med.Labor 20:1021/1967

30. Johnson R.E., Sargent F., Passmore R.:
Normal variations in total ketone bodies in
serum and urine of healthy young men.
Quart.J.Exp.Physiol. 43:339/1958
31. Johnson R.H., Walton D.L., Williamson D.H.:
Post exercise ketosis.
Lancet 2:1383/1969
32. Johnson R.H., Walton D.L., Vobes H.:
Metabolic fuels during and after severe exercise
in athletes and non athletes.
Lancet 6:452/1969
33. Kleeberg J.:
A rapid semi-quantitative test for diacetic
acid in blood and urine.
clin.chim.acta 13:779/1966
34. Kreyszig E.:
Statistische Methoden und ihre Anwendung.
Verlag Vandenhoeck Rupprecht, Göttingen
3.Nachdruck 1970
35. Kulpe W.:
Neuartige Harnzucker- und Acetonbestimmung
für die ärztliche Praxis.
Berl.Med. 20:444/1958
36. Lee Ch., Duncan G.:
Diabetic coma: the value of a simple test for
acetone in the plasma. An aid to diagnosis and
treatment.
Metabolism 5:144/1950
37. Legal E.:
Über eine neue Acetonreaktion und deren Ver-
wendbarkeit zur Harnuntersuchung.
Ber .dtsh. chem. Ges. 17:503/1884
38. Lyon J.B., Bloom W.L.:
The use of furfural for the determination of
acetone bodies in biological fluids
Canad.J.Biochem. 36: 1047/1958
39. Madonia J.P.:
Acetone and acetone bodies in serum.
Amer.J.clin.Path. 39:206/1963

40. Manns J., Boda J.:
Insulin release by acetate, propionate, butyrate
and glucose in lambs and adult sheep.
Amer.J.clin.Path. 212:747/1967
41. Martin H.E., Wick A.N.:
Quantitative relationship between blood and
urine ketone levels in diabetic acidosis.
J.clin.invest. 22:235/1943
42. Mellanby J., Dermitt H., Williamson D.H.:
Enzymatische Bestimmung von Acetacetat.
In Bergmeyers Methoden der enzymatischen Analyse
Verlag Chemie 454/1960
43. Menahan L.A., Holtmann W.B., Schultz L.H., Hoekstra W.G.:
Relationship between β -hydroxybutyrate and
acetoacetate plus acetone contents of blood
and urine of the ruminant.
J.diary.Sci. 50:1409/1967
44. Menahan L.A., Ross B.D., Wieland O.:
Acetyl-CoA level in perfused rat liver during
gluconeogenesis and ketogenesis.
Biochem.Res.comm. 30:38/1968
45. Nash J., Lister J., Vobes D.:
Clinical tests for ketonuria.
Lancet 4:801/1968
46. Page O.:
Clinical application of a simple qualitative
serum acetone test in diabetes mellitus.
N.Engl.J.Med. 248/295/1953
47. Passmore R.:
On ketosis
Lancet 1:839/1961
48. Peden V.:
Determination of individual serum ketone bodies
with normal values in infants and children.
J.clin.Lab.med. 63:332/1964
49. Pocelinko R., Solomon H.M., Gaut N.:
Doped dipsticks
New Engl.J.Med. 281:1075/1967

50. Pröls H.:
Untersuchung zur Resorption freier Fettsäuren
Inauguraldisseration München 1966
51. Riekers H., Miale J.:
Ketouria: An evaluation of tests and some
clinical implications.
Amer.J.clin.Path. 30:530/1958
52. Rosenthal S.:
A colorimetric method for the estimation of
acetoacetic acid in the blood.
J.biol.chem. 179:1235/1949
53. Roth H.J., Surborg K.H.:
Zum Mechanismus und zur Spezifität der Legal'schen
Probe.
Arch.Pharm.(Weinheim) 301:686/1968
54. Saifer A., Gerstenfeld S.:
The photometric micro-determination of blood
glucose with glucose oxidase.
J.Lab.clin.med. 51:448/1958
55. Shaw C.E., Hurwitz G.E., Schmuckler M., Brager S.H., Bessmann S.:
A clinical and laboratory study of insulin dosage
in diabetic acidosis: comparison of small and large
doses.
Diabetes 11:23/1962
56. Stark I.E., Somogy M.:
The quantitative relationship between β -hydroxy-
butyrate acid and acetotacetate acid in blood and
urine.
J.biol.chem. 147:319/1943
57. Stein G., Baessler K.H.:
Mikromethode zur enzymatischen Bestimmung von
Acetessigsäure und 3-Hydroxybutyrat in Blut und
Gewebe.
Z.Klin.Chem. 6:27/1970
58. Stephens J.M., Sulway M.J., Watkins P.J.:
Relationship of blood acetoacetate and 3-hydroxy-
butyrate in diabetes.
Diabetes 7:485/1971

59. Sterky G.C.G., Person B.E.H., Larson Y.A.A.:
Dietary fats, the diurnal blood lipids and ketones
in juvenile diabetes.
Diabetologica 2:14/1966
60. Strandgaard S., Nielson P.E., Bitsch V.:
Blood lactate and ketone bodies in diabetic
ketoacidosis.
Acta med.Scand. 1:17/1971
61. Sulway M.J., Malins J.M.:
Acetone in diabetic ketoacidosis.
Lancet 2:736/1970
62. Swoboda H.: Knaurs Buch der modernen Statistik.
Droemersch Verlagsanstalt 1971
- 63 Van Slyke D.D.:
Studies of the acidosis VII: The determination of
β-hydroxybutyrate acid, acetoacetate acid and acetone
in urine.
J.biol.chem. 32:455 /1917
64. Warming-Larson A.:
Renal excretion of ketone bodies.
acta med.scand. 144:197/1952
65. Watkins P.J., Fitzgerald M.G.:
An evaluation of Ketostix strips.
Diabetes 17:398/1968
66. Watkins P.J., Fitzgerald M.G., Malins J.M.:
Interrelationship of blood sugar and ketones in
insulin treated diabetes.
Brit.med.J. 4:648/1969
67. Watkins P.J., Hill D.M., Fitzgerald M.G., Malins J.M.:
Ketonemia in uncontrolled diabetes mellitus .
Brit. med.J. 4:522/1970
68. Watkins P.J., Smiths J.S., Fitzgerald M.G., Malins J.M.:
Lactic acidosis in diabetes.
Brit. med.J. 1:744/1969
69. Weichselbaum T.E., Somogy M.:
A method for the determination of small amounts
of ketone bodies.
J.biol.chem. 140:5/1941

70. Werk I., Gerber S., Shoulton L.:
Effect of sympathetic blockade on change in blood
ketones and nonesterified fatty acids following
hypoglykämia in man.
Metabolism 10:115/1961
71. Werk E., Knowles H.:
The blood ketones and plasma free fatty acids
concentrations in diabetic and normal subjects.
Diabetes 10:22/1961
72. Willms B., Böttcher M., Wolters V., Sakamoto M., Sölling H.D.:
Relationship between fat and ketone body metabolism.
Diabetologica 5:88/1969
73. Widmark E.M.P.:
Studies in acetone concentrations in blood, urine
and alveolar air-passage of acetone and acetoacetate
acid in the urine.
Biochem.J. 14:364/1920
74. Wildenhof K.E.:
A micro method for the enzymatic determination
of 3-hydroxybutyrate and acetoacetate in blood
and urine.
Scand.J.Lab.invest. 25:171/1970
75. Williamson D.H., Mellanby J.:
Enzymatische Bestimmung des β -Hob.
In Bergmeyers Methoden der enzymatischen Analysen.
Verlag Chemie Auflage 1962 459/1962
76. Williamson D.H., Mellanby J., Krebs H.A.:
Enzymatic determination of D-(-)- β -hydroxybutyrate
acid and acetoacetate acid in blood.
Biochem J. 82:90/1962

Herrn Prof. Dr. H. Mehnert, Chefarzt III. Med. Abteilung des Krankenhauses München-Schwabing danke ich für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Besonders dankbar bin ich für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten mir im Labor der III. Med. Abteilung gegeben wurden.

Großen Dank schulde ich Herrn Oberarzt Dr. M. Haslbeck, der stets zu Gesprächen bereit war und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Herzlichen Dank auch an Frau Ch. Burdet, die mit stets gleichbleibender Freundlichkeit und mit großem Einsatz mir bei der Bewältigung organisatorischer Fragen und der chemischen Bestimmungen zur Hand ging.

Lebenslauf.

Am 21.3.44 wurde ich als 2tes Kind des Bankabteilungsleiters Artur Mackel und seiner Ehefrau Maria, geb. Nislein in Lam / Krs.Kötzting geboren. Vom Jahre 1950 - 1954 besuchte ich die Volksschule in München, von 1954 - 1963 die Luitpold-oberrealschule in München, wo ich im Juli 1963 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1963 wurde ich zur Bundeswehr eingezogen, wo ich 2 Jahre bei der Sanitätstruppe diente, davon 1 Jahr bei der Sanitätsakademie in München. Nach der Entlassung immatrikulierte ich mich im Oktober 1965 an der Ludwig - Maximilians - Universität in München, legte am 20.7.66 mein Vorphysikum, am 16.1.68 mein Physikum ab. Bis zum Staatsexamen am 16.08.1971 studierte ich weiter in München.

Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich im Krankenhaus Oberföhring, Krankenhaus Harlaching und Krankenhaus Schwabing in München.

